

UNIVERSIDADE FEDERAL DOS VALES DO JEQUITINHONHA E MUCURI

Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos

Gabriela Fontes Alvarenga

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE
ESPÉCIES VEGETAIS PARA APLICAÇÃO COMO ADITIVO EM FILMES/
REVESTIMENTOS PARA ALIMENTOS**

Diamantina

2018

Gabriela Fontes Alvarenga

**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE
ESPÉCIES VEGETAIS PARA APLICAÇÃO COMO ADITIVO EM FILMES/
REVESTIMENTOS PARA ALIMENTOS**

Dissertação apresentada ao programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, como requisito para obtenção do título de Mestre.

Orientador: Prof^a. Dra. Nísia Andrade Villela
Dessimoni Pinto

Coorientadora: Prof^a Dra. Franciele Maria Pelissari

Diamantina

2018

Elaborada com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

A473a Alvarenga, Gabriela Fontes.

Avaliação do potencial antimicrobiano e antioxidante de espécies vegetais para aplicação como aditivo em filmes/ revestimentos para alimentos / Gabriela Fontes Alvarenga. - Diamantina, 2018.

136 f. : il., tabs., gráfs.

Orientadora: Nísia Andrade Villela Dessimoni Pinto Coorientadora: Franciele Maria Pelissari

Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos) – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2018.

1. Compostos bioativos das plantas. 2. Antioxidantes. 3. Agentes antiinfeciosos. I. Pinto, Nísia Andrade Villela Dessimoni. II. Pelissari, Franciele Maria. III. Título. IV. Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri.

CDD 615.321

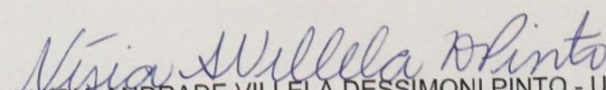
GABRIELA FONTES ALVARENGA

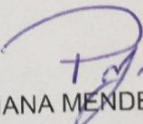
**AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE
ESPÉCIES VEGETAIS PARA APLICAÇÃO COMO ADITIVO EM FILMES/
REVESTIMENTOS PARA ALIMENTOS**

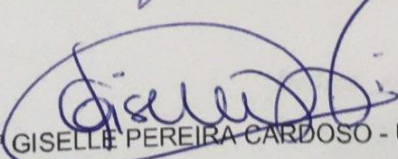
Dissertação apresentada ao
MESTRADO EM CIÊNCIA E
TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, nível
de MESTRADO como parte dos
requisitos para obtenção do título de
MAGISTER SCIENTIAE EM CIÊNCIA
E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Nisia
Andrade Villela Dessimoni Pinto

Data da aprovação : 13/07/2018


Prof.Dr.^a NISIA ANDRADE VILLELA DESSIMONI PINTO - UFVJM


Prof.Dr.^a POLIANA MENDES DE SOUZA - UFVJM


Prof.Dr.^a GISELLE PEREIRA CARDOSO - UFVJM

*Dedico este trabalho aos meus pais e
irmãos, por permitirem que meus sonhos
se tornem realizações!*

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por sempre iluminar meu caminho, por permitir que as dificuldades sejam superadas, e por colocar pessoas especiais na minha vida.

A Nossa Senhora Aparecida, por me cobrir com seu manto e sempre interceder por mim.

Aos meus Pais, Alcione e Ilton, por me darem a oportunidade de alcançar meus objetivos, sempre mostrando que podemos conseguir. Por todo cuidado, por vocês serem o meu porto seguro, por muitas vezes abrirem mãos de viverem os próprios sonhos para viver os meus! Nenhuma palavra é suficiente para demonstrar a gratidão que tenho por vocês!

Aos meus irmãos, Izabela, Gabriel e Beliza, por cuidar, me incentivar, e acreditar em mim! Por vibrarem comigo a cada conquista e realização! Se eu não tivesse vocês e nossos pais, tenho certeza que nada disso seria possível!

Aos meus sobrinhos, Luiza, Miguel, Helena e Carolina, por trazerem mais amor, carinho e diversão, as minhas idas a Itabira!

A minha avó Zilda, avós João e Maurício, que mesmo em pensamento se fazem sempre presentes. A minha avó Terezinha, por toda oração e ajuda, as minhas madrinhas, tios e primos, em especial a Aninha, por me mostrarem sempre o que é ter uma família, e o quanto isso é importante.

A minha orientadora, Nísia por todo o conhecimento passado, por acreditar em mim, me dar a imensa oportunidade de aprender, e por estar sempre disponível. Você é um exemplo de profissional e de pessoa para mim!

A professora Franciele pela disponibilidade de me co-orientar, pelos ensinamentos e por sempre me atender de prontidão!

A todos os docentes do Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos pelos conhecimentos repassados!

A Paula, Keyla, Dani, Lud e Fabi, por todo o auxílio durante os experimentos, pela paciência, e disponibilidade!

Aos amigos que fiz em Diamantina, em especial as meninas da República Caribenhas e agregadas, e a Fenda dos Biquínis, vocês fizeram com que eu me sentisse em casa, transformaram essa cidade em um lugar especial, e facilitaram a caminhada!

A todos que participaram direta ou indiretamente da realização desse sonho! Enfim, eu reconheço que sou uma pessoa privilegiada por ter tantas pessoas especiais em minha vida! A todos vocês, fica aqui meu muito obrigada!

Se teus olhos forem bons, todo o teu
corpo terá luz.
(Mateus 6:22,23).

RESUMO

Há diversas espécies vegetais que apresentam nas suas estruturas, como folha, casca, raiz, polpa, semente, e estigma, substâncias com potencial bioativo. Essas substâncias estão associadas a uma possível capacidade antioxidante e antimicrobiana, propriedades interessantes para a indústria de alimentos, pois tornam essas espécies vegetais opção para substituição de aditivos sintéticos utilizados para prolongar a vida de prateleira dos alimentos. Com isso, essa pesquisa teve como objetivo produzir dez extratos metanólicos a partir de diferentes espécies vegetais: jatobá (casca e polpa), tamarindo (casca, polpa e semente), folha de bananeira, folha de jabuticaba, folha de ora-pro-nóbis, estigmas (cabelo) de milho e pó de café torrado, para avaliá-los quanto a capacidade antioxidante e antimicrobiana com o intuito de utilizá-los como aditivo natural em filmes biodegradáveis e revestimentos comestíveis a base de amido de mandioca. Em relação à produção e análise dos extratos, o maior rendimento foi obtido para a polpa de tamarindo (56,12%), a maior capacidade antioxidante observadas nos métodos DPPH, ABTS e FRAP, foi no extrato de folha de jabuticaba, seguido dos extratos de polpa, casca e semente de tamarindo. O teor de fenólicos totais (TFT) foi significativamente superior no extrato de folha de jabuticaba. E para a capacidade antimicrobiana, as menores concentrações requeridas para inibir todas as bactérias testadas foram do extrato de polpa de tamarindo. Ou seja, os diferentes extratos vegetais analisados apresentaram potencial antioxidante e antimicrobiano, com destaque para os extratos de folha de jabuticaba e polpa de tamarindo, que foram efetivos para reduzir a oxidação e também evitar o crescimento das bactérias nas menores concentrações. Mas como extrato de polpa de tamarindo apresentou o melhor rendimento, e a menor concentração inibitória, ele foi escolhido para aplicação como aditivo natural no filme e revestimento a base de amido de mandioca. A incorporação do extrato de polpa de tamarindo no filme biodegradável a base de amido de mandioca, não afetou a espessura, o conteúdo de umidade e a solubilidade em água. Entretanto alterou as propriedades mecânicas: reduziu a resistência a tração e o módulo de Young, e aumentou a capacidade de elongação. O extrato também aumentou a capacidade antioxidante do filme em todos os métodos analisados. Já o revestimento a base de amido adicionado do extrato de polpa de tamarindo foi aplicado em cenouras minimamente processadas para avaliar sua capacidade de conservação ao longo de 14 dias de armazenamento. Constatou-se que a utilização do extrato como aditivo no revestimento não afetou a perda de massa, a firmeza e o teor de carotenoides. Conservou a acidez titulável e o pH, e ao ser aplicado reduziu o TFT, mas, ao longo do tempo de armazenamento os manteve

constante. Para a qualidade microbiológica das cenouras, o revestimento com extrato foi efetivo no controle do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras e coliformes totais. Em geral, os resultados obtidos neste trabalho demonstram que há diversas espécies vegetais com potencial para substituição de aditivos sintéticos na indústria de alimentos. Como por exemplo, o extrato de polpa de tamarindo, que apresentou bons resultados ao ser aplicado em filme e revestimento biodegradáveis, na conservação de vegetais minimamente processados.

Palavras-chave: antimicrobiano, antioxidante, aditivo natural, filme biodegradável, revestimento comestível.

ABSTRACT

There are several plant species that present in their structures, such as leaf, bark, root, pulp, seed, and stigma, substances with bioactive potential. These substances are associated with a possible antioxidant and antimicrobial capacity, interesting properties for the food industry, as they make these plant species an option for replacement of synthetic additives used to prolong the shelf life of foods. The aim of this research was to produce ten methanolic extracts from different plant species: jatobá (bark and pulp), tamarind (bark, pulp and seed), banana leaf, jabuticaba leaf, ora-pro-nobis leaf, silk of corn and roasted coffee powder to evaluate them for antioxidant and antimicrobial capacity in order to use them as a natural additive in biodegradable films and edible cassava starch-based coatings. In relation to the production and analysis of the extracts, the highest yield was obtained for the tamarind pulp (56.12%), the highest antioxidant capacity observed in the DPPH, ABTS and FRAP methods was in the leaf extract of jabuticaba, followed by extracts pulp, peel and seed of tamarind. The total phenolic content (TPC) was significantly higher in the leaf extract of jabuticaba. And for antimicrobial capacity, the lowest concentrations required to inhibit all bacteria tested were from the tamarind pulp extract. In other words, the different vegetal extracts analyzed presented antioxidant and antimicrobial potential, especially the extracts of jabuticaba leaf and tamarind pulp, which were effective to reduce oxidation and also to avoid the growth of the bacteria in the lower concentrations. But as tamarind pulp extract presented the best yield, and the lowest inhibitory concentration, it was chosen for application as a natural additive in the film and cassava starch based coating. The incorporation of the tamarind pulp extract into the cassava starch-based biodegradable film did not affect the thickness, the moisture content and the solubility in water. However, it changed the mechanical properties: it reduced the tensile strength, Young's modulus and increased elongation capacity. The extract also increased the antioxidant capacity of the film in all analyzed methods. The cassava starch-based coating added to the tamarind pulp extract was applied to minimally processed carrots to evaluate its storage capacity over 14 days of storage. It was found that the use of the extract as an additive in the coating did not affect the loss of mass, firmness and carotenoid content. It retained the titratable acidity and pH, and when applied reduced TPC, but over the storage time it kept constant. For the microbiological quality of the carrots, the extract coating was effective in controlling the growth of aerobic mesophilic bacteria, molds and yeasts and total coliforms. In general, the results obtained in this work demonstrate that there are several plant species with potential for substitution of synthetic additives in the food industry. As for

example the tamarind pulp extract, which presented good results when applied in biodegradable film and coating, in the conservation of minimally processed vegetables.

Keywords: antimicrobial, antioxidant, natural additive, biodegradable film, edible coating.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

❖ CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES EXTRATOS VEGETAIS

Figura 1 - Rendimento (%) do processo de extração utilizando metanol 80% como solvente.....	36
--	----

❖ CAPÍTULO 2

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL NAS PROPRIEDADES DE FILME BIODEGRADÁVEL A BASE DE AMIDO DE MANDIOCA

Figura 1 - Filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca (A) com adição de 3,1% de extrato de polpa de tamarindo e (B) sem adição de extrato.....	84
Figura 2 - Microscopia eletrônica de varredura das superfícies (1º e 2º coluna) e seção transversal (3º coluna) dos filmes a base de amido de mandioca sem incorporação de extrato (A) e com incorporação de extrato de polpa de tamarindo (B).....	90

❖ CAPÍTULO 3

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL EM REVESTIMENTO BIODEGRADÁVEL NA CONSERVAÇÃO DE CENOURAS MINIMAMENTE PROCESSADAS

Figura 1 - Perda de massa das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.....	110
Figura 2 - Firmeza das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.....	111
Figura 3 - Acidez titulável das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.....	112
Figura 4 - pH das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.....	113
Figura 5 - Teor de fenólicos totais nas cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.....	115

Figura 6 - Teor de carotenoides nas cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.....	116
Figura 7 - Efeito dos tratamentos em bactérias aeróbias mesófilas presentes em cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.....	118
Figura 8 - Efeito dos tratamentos em bolores e leveduras presentes em cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.....	119

LISTA DE TABELAS

❖ CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES EXTRATOS VEGETAIS

Tabela 1 - Espécies vegetais utilizadas para produção de extratos metanólicos.....	28
Tabela 2 - Caracterização físico-química das matérias-primas utilizadas para a produção dos extratos metanólicos.....	35
Tabela 3 - Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante "in vitro" pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, dos extratos metanólicos.....	38
Tabela 4 - Halos de inibição (mm) dos extratos metanólicos, controles positivos e negativos, frente às bactérias Gram (+) e Gram (-).....	47
Tabela 5 - Concentrações inibitórias mínimas em mg mL ⁻¹ dos extratos metanólicos.....	54

❖ CAPÍTULO 2

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL NAS PROPRIEDADES DE FILME BIODEGRADÁVEL A BASE DE AMIDO DE MANDIOCA

Tabela 1 - Propriedades do filme a base de amido de mandioca sem e com adição de 3,1% de extrato de polpa de tamarindo.....	85
Tabela 2 - Propriedades mecânicas dos filmes a base de amido de mandioca, sem e com adição de extrato de polpa de tamarindo.....	87
Tabela 3 - Capacidade antioxidante dos filmes a base de amido de mandioca sem e com adição de extrato de polpa de tamarindo.....	91

❖ CAPÍTULO 3

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL EM REVESTIMENTO BIODEGRADÁVEL NA CONSERVAÇÃO DE CENOURAS MINIMAMENTE PROCESSADAS

Tabela 1 - Efeito dos tratamentos em coliformes totais presentes em cenouras minimamente processadas.....	120
Tabela 2 - Equações de regressão dos parâmetros de qualidade das cenouras minimamente processadas em função do tempo de armazenamento.....	121

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

(-) – Negativo

(+) – Positivo

Abs₀ – Absorbância do branco

Abs₁ – Absorbância da amostra

ABTS – Radical livre 2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonate)

AG – Ácido gálico

AT – Acidez titulável

ATCC - *American Type Culture Collection*

BDA – Batata dextrose agar

BHI - *Brain Heart Infusion*

CIM – Concentração inibitória mínima

DNA – Ácido desoxirribonucleico

DPPH – Radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazila

EAG – Equivalentes ao ácido gálico

EC₅₀ – Concentração necessária para inibir 50% do radical livre DPPH

FRAP – *Ferric Reducing Antioxidant Power*

IAA – Índice de atividade antioxidante

Lat. – Latitude

Long – Longitude

m/m – Relação de peso/peso

MEV – Microscopia eletrônica de varredura

NCCLS – *National Committee for Clinical Laboratory Standards*

NMP – Número mais provável

NRRL - *Northern Regional Research Laboratories*

p/v – Relação de peso/volume

PCA – Ágar para contagem em placas

PET – Politereftalato de etila

P_f – Peso final

pH – Potencial hidrogeniônico

P_i – Peso inicial

R² – Coeficiente de determinação

S – Solubilidade

SFF – Suspensão formadora de filme

SST – sólidos solúveis totais

TC, CC – Teor de carotenoides

TFT, TPC – Teor de fenólicos totais

TTC – Cloreto de trifenil tetrezólico

UFC – Unidades formadoras de colônias

UR – Umidade relativa

v/v – Relação volume/volume

vs. – Versus

W – Concentração da amostra no volume final da diluição

SUMÁRIO

❖	INTRODUÇÃO GERAL	19
❖	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	20
❖	CAPÍTULO 1.....	24
	AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES EXTRATOS VEGETAIS.....	24
1	INTRODUÇÃO	26
2	MATERIAL E MÉTODOS	27
2.1	<i>Materiais vegetais</i>	27
2.2	<i>Produtos químicos</i>	28
2.3	<i>Caracterização físico-química das matérias-primas</i>	28
2.4	<i>Obtenção dos extratos</i>	29
2.5	<i>Teor de Fenólicos Totais (TFT)</i>	29
2.6	<i>Capacidade Antioxidante “in vitro”</i>	30
2.6.1	<i>Capacidade de eliminação de radicais DPPH</i>	30
2.6.2	<i>Capacidade de eliminação de radicais ABTS</i>	31
2.6.3	<i>Capacidade de redução férrica (FRAP)</i>	32
2.7	<i>Determinação da Capacidade Antimicrobiana</i>	32
2.7.1	<i>Teste de difusão em ágar</i>	32
2.7.2	<i>Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)</i>	33
2.8	<i>Análises Estatísticas</i>	33
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	34
3.1	<i>Caracterização físico-química da matéria-prima</i>	34
3.2	<i>Rendimento dos extratos metanólicos</i>	35
3.3	<i>Teor de fenólicos totais (TFT)</i>	37
3.4	<i>Capacidade antioxidante “in vitro”</i>	40
3.4.1	<i>Capacidade de eliminação de radicais DPPH</i>	40
3.4.2	<i>Capacidade de eliminação de radicais ABTS</i>	42

3.4.3	<i>Capacidade de redução férrica (FRAP).....</i>	44
3.5	<i>Determinação da Capacidade Antibacteriana.....</i>	45
4	CONCLUSÕES.....	55
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	56
❖	CAPÍTULO 2.....	75
	EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL NAS PROPRIEDADES DE FILME BIODEGRADÁVEL A BASE DE AMIDO DE MANDIOCA	75
1	INTRODUÇÃO	76
2	MATERIAIS E MÉTODOS	78
2.1	<i>Materiais e produtos químicos</i>	78
2.2	<i>Obtenção do extrato de polpa de tamarindo</i>	79
2.3	<i>Produção dos filmes biodegradáveis.....</i>	79
2.4	<i>Caracterização dos filmes biodegradáveis</i>	80
2.4.1	<i>Espessura.....</i>	80
2.4.2	<i>Conteúdo de umidade</i>	80
2.4.3	<i>Solubilidade em água</i>	80
2.4.4	<i>Propriedades mecânicas</i>	81
2.4.5	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....</i>	81
2.5	<i>Capacidade antioxidante “in vitro”</i>	81
2.5.1	<i>Capacidade de eliminação de radicais DPPH.....</i>	81
2.5.2	<i>Capacidade de eliminação de radicais ABTS</i>	82
2.5.3	<i>Capacidade de redução férrica (FRAP).....</i>	83
2.6	<i>Análises estatísticas.....</i>	83
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	84
3.1	<i>Caracterização dos filmes biodegradáveis</i>	84
3.1.1	<i>Espessura.....</i>	85
3.1.2	<i>Conteúdo de umidade</i>	85
3.1.3	<i>Solubilidade em água</i>	86
3.1.4	<i>Propriedades mecânicas</i>	87
3.1.5	<i>Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....</i>	89
3.2	<i>Capacidade antioxidante “in vitro”</i>	90
4	CONCLUSÕES.....	92
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	93

❖	CAPÍTULO 3.....	100
	EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL EM REVESTIMENTO	
	BIODEGRADÁVEL NA CONSERVAÇÃO DE CENOURAS MINIMAMENTE	
	PROCESSADAS.....	100
1	INTRODUÇÃO	102
2	MATERIAIS E MÉTODOS	104
2.1	<i>Materiais e produtos químicos</i>	<i>104</i>
2.2	<i>Preparo das amostras.....</i>	<i>104</i>
2.3	<i>Obtenção do extrato de polpa de tamarindo</i>	<i>105</i>
2.4	<i>Produção dos revestimentos.....</i>	<i>105</i>
2.5	<i>Qualidade dos vegetais durante o armazenamento.....</i>	<i>105</i>
2.5.1	<i>Perda de massa.....</i>	<i>106</i>
2.5.2	<i>Firmeza.....</i>	<i>106</i>
2.5.3	<i>AT e pH.....</i>	<i>106</i>
2.5.4	<i>Teor de fenólicos totais (TFT).....</i>	<i>107</i>
2.5.5	<i>Teor de Carotenoides (TC).....</i>	<i>107</i>
2.5.6	<i>Análises microbiológicas.....</i>	<i>108</i>
2.6	<i>Análises estatísticas.....</i>	<i>108</i>
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	108
3.1	<i>Perda de massa.....</i>	<i>108</i>
3.2	<i>Firmeza.....</i>	<i>110</i>
3.3	<i>AT e pH.....</i>	<i>111</i>
3.4	<i>Teor de fenólicos totais (TFT).....</i>	<i>114</i>
3.5	<i>Teor de Carotenoides (TC).....</i>	<i>115</i>
3.6	<i>Análises microbiológicas.....</i>	<i>116</i>
4	CONCLUSÕES.....	122
5	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	122
❖	CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	130

❖ INTRODUÇÃO GERAL

Atualmente é perceptível a mudança de comportamento dos consumidores, que exigem cada vez mais alimentos naturais e seguros para a saúde, o que impulsiona a utilização de matérias-primas naturais em produtos industrializados (GUNYAKTI e ASAN-OZUSAGLAM, 2018; KARRE et al., 2013; ORIANI et al., 2014). Como alternativa, a indústria de alimentos tem a possibilidade de utilizar espécies vegetais como substituintes de aditivos sintéticos, que apesar de serem eficientes, podem ser tóxicos, carcinogênicos e de custos mais elevados (COMERT e GOKMEN, 2018).

Há diversas espécies vegetais que possuem substâncias relacionadas à atividade antimicrobiana e antioxidante (STEINER et al., 2017). Essas substâncias são originadas do metabolismo secundário das plantas e conhecidas como fitoquímicos: alcaloides, flavonoides, taninos, cumarinas, glicosídeos, terpenos, entre outros (DUARTE et al., 2014; PHILIPPSEN et al., 2013; SYNOWIEC et al., 2014). A presença desses fitoquímicos tornam essas espécies vegetais importantes para indústria alimentícia, sendo opção para estender a vida de prateleira e controlar a deterioração e multiplicação de microrganismos indesejáveis em alimentos (MACIEL et al., 2012; VIEITEZ et al., 2018). Uma opção de aplicação de espécies vegetais como aditivos naturais na indústria de alimentos é a adição de extratos vegetais na formulação de filmes biodegradáveis e revestimentos comestíveis. Esses extratos atuam como antioxidante e antimicrobiano, retardando as deteriorações fisiológicas, alterações bioquímicas e degradação e multiplicação de microrganismos (LAI et al., 2013; ROMAN et al., 2016).

Filmes biodegradáveis e revestimentos comestíveis são amplamente utilizados na conservação de alimentos processados e frescos, atuando como barreira de proteção, atóxica e de baixo custo (CAETANO et al., 2018; GE et al., 2018; GNIEWOSZ et al., 2014). Também são alternativas para obtenção de produtos ecologicamente corretos e para redução dos impactos ambientais decorrentes da acumulação de plásticos derivados de polímeros sintéticos (ASSIS et al., 2017; GE et al., 2018; SÁNCHEZ-ORTEGA et al., 2016). Os materiais básicos de fabricação dos filmes biodegradáveis e revestimentos comestíveis são polissacarídeos, proteínas e lipídeos, podendo ocorrer a combinação dessas matérias-primas com o intuito de alcançar melhores características (ASSIS et al., 2017; CAETANO et al., 2018; GE et al., 2018; KAM et al., 2018).

Filmes biodegradáveis e revestimentos que são adicionados de compostos com alguma funcionalidade, com intuito de diminuir ou controlar alguma característica indesejável, são denominados de embalagens ativas (CAETANO et al., 2018). Elas protegem o produto alimentar de forma dinâmica, podendo interagir com o ambiente e/ou produto, como exemplo filmes antimicrobianos e antioxidantes, sachês absorvedores de etileno, CO₂ e O₂ e filmes contendo enzimas e aromas (DURANGO et al., 2011; LOPES et al., 2014; NUNES et al., 2018).

O desenvolvimento de filmes biodegradáveis e revestimentos comestíveis adicionados de extratos vegetais que possibilitam melhorar suas características funcionais, como antioxidante e antimicrobiana, torna-se uma opção para agregação de valor e resposta as mudanças do mercado, que busca cada vez mais produtos naturais e de qualidade. Com isso, esse trabalho objetivou produzir extratos metanólicos de diferentes espécies vegetais, e avaliá-los quanto ao potencial bioativo, através da determinação da capacidade antioxidante e antimicrobiana, com o intuito de utilizá-los como aditivo natural em filmes biodegradáveis e revestimentos comestíveis a base de amido de mandioca.

❖ REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, R. Q.; LOPES, S. M.; COSTA, T. M. H.; FLÔRES, S. H.; DE OLIVEIRA RIOS, A. Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 818-827, 2017.

CAETANO, K. S.; LOPES, N. A.; COSTA, T. M. H.; BRANDELLI, A.; RODRIGUES, E.; FLÔRES, S. H.; CLADERA-OLIVERA, F. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Food packaging and shelf life**, v. 16, p. 138-147, 2018.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**. v. 105, p. 76-93, 2018.

DUARTE, A. F. S.; HIROTA, B. C. K.; DE OLIVEIRA, V. B.; CAMPOS, R.; MURAKAMI, F. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato etanólico bruto e frações orgânicas obtidas a partir da casca do

caule da espécie *Guettarda uruguensis* Cham. e Scthdl.(Rubiaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35(4), p. 607-614, 2015

DURANGO, A. M.; de SOARES, N.; ARTEAGA, M. R. Filmes y revestimientos comestibles como empaques activos biodegradables en la conservación de alimentos. **Biotechnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA**, v, 9(1), p. 112-118, 2011.

GE, L.; ZHU, M.; LI, X.; XU, Y.; MA, X.; SHI, R.; MU, C. Development of active rosmarinic acid-gelatin biodegradable films with antioxidant and long-term antibacterial activities. **Food Hydrocolloids**, v. 83, p. 308-316, 2018.

GNIEWOSZ, M.; SYNOWIEC, A.; KRAŚNIEWSKA, K.; PRZYBYŁ, J. L.; BĄCZEK, K.; WĘGLARZ, Z. The antimicrobial activity of pullulan film incorporated with meadowsweet flower extracts (*Filipendulae ulmariae flos*) on postharvest quality of apples. **Food Control**, v. 37, p. 351-361, 2014.

GUNYAKTI, A.; ASAN-OZUSAGLAM, M. Investigation of the potential use of *Lactobacillus gasseri* originated from human breast milk as food additive. **LWT**, v, 93, p. 613-619, 2018.

KAM, W. Y. J.; MIRHOSSEINI, H.; ABAS, F.; HUSSAIN, N.; HEDAYATNIA, S.; CHONG, H. L. F. Antioxidant activity enhancement of biodegradable film as active packaging utilizing crude extract from durian leaf waste. **Food Control**, v. 90, p. 66-72, 2018.

KARRE, L.; LOPEZ, K.; GETTY, K. J. Natural antioxidants in meat and poultry products. **Meat science**, v. 94(2), p. 220-227, 2013.

LAI, T. Y.; CHEN, C. H.; LAI, L. S. Effects of tapioca starch/decolorized hsian-tsao leaf gum-based active coatings on the quality of minimally processed carrots. **Food and Bioprocess Technology**, v. 6(1), p. 249-258, 2013.

MACIEL, M. J.; PAIM, M. P.; CARVALHO, H. H. C.; WIEST, J. M. Avaliação do extrato alcoólico de hibisco (*Hibiscus sabdariffa* L.) como fator de proteção antibacteriana e antioxidante. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 71(3), p. 462-470, 2012.

NUNES, M. R.; CASTILHO, M. D. S. M.; de LIMA VEECK, A. P.; da ROSA, C. G.; NORONHA, C. M.; MACIEL, M. V.; BARRETO, P. M. Antioxidant and antimicrobial methylcellulose films containing *Lippia alba* extract and silver nanoparticles. **Carbohydrate polymers**, v. 192, p. 37-43, 2018.

ORIANI, V. B.; MOLINA, G.; CHIUMARELLI, M.; PASTORE, G. M.; HUBINGER, M. D. Properties of Cassava Starch-Based Edible Coating Containing Essential Oils. **Journal of food science**, v. 79(2), p. E189-E194, 2014.

MIGUEL, D.; de LIMA, C. P.; KALEGARI, M. M.; LORDELLO, A. L. L. Avaliação da atividade antibacteriana das cascas das raízes de *Xylosma ciliatifolia* (Clos) Eichler (flacortiaceae/salicaceae sensu lato). **Revista Cubana de Plantas Medicinales**, v. 18(2), p. 258-267, 2013.

ROMAN, M. J.; DECKER, E. A.; GODDARD, J. M. Biomimetic polyphenol coatings for antioxidant active packaging applications. **Colloid and Interface Science Communications**, v. 13, p. 10-13, 2016.

SÁNCHEZ-ORTEGA, I.; GARCÍA-ALMENDÁREZ, B. E.; SANTOS-LÓPEZ, E. M.; REYES-GONZÁLEZ, L. R.; REGALADO, C. Characterization and antimicrobial effect of starch-based edible coating suspensions. **Food Hydrocolloids**, v. 52, p. 906-913, 2016.

STEINER, A. D.; VARGAS, A.; FRONZA, N.; BRANDELLI, A.; dos SANTOS, J. H. Z. Antimicrobial activity of some natural extracts encapsulated within silica matrices. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 160, p. 177-183, 2017.

SYNOWIEC, A.; GNIEWOSZ, M.; KRAŚNIEWSKA, K.; PRZYBYŁ, J. L.; BĄCZEK, K.; WĘGLARZ, Z. Antimicrobial and antioxidant properties of pullulan film containing sweet basil extract and an evaluation of coating effectiveness in the prolongation of the shelf life of

apples stored in refrigeration conditions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v, 23, p. 171-181, 2014.

VIEITEZ, I.; MACEIRAS, L.; JACHMANIÁN, I.; ALBORÉS, S. Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 58-64, 2018.

❖ CAPÍTULO 1

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIMICROBIANO E ANTIOXIDANTE DE DIFERENTES EXTRATOS VEGETAIS

RESUMO

Há diversas espécies vegetais com potencial capacidade antioxidante e antimicrobiana, devido a presença de substâncias bioativas, que não são tão bem aproveitadas. Essa capacidade de inibir o crescimento de microrganismos e evitar a oxidação tornam as espécies vegetais opção para substituição de aditivos sintéticos na indústria de alimentos. Com isso, objetivou-se produzir e avaliar o potencial bioativo de dez extratos metanólicos de diferentes espécies vegetais: jatobá (casca e polpa), tamarindo (casca, polpa e semente), folha de bananeira, folha de jabuticaba, folha de ora-pro-nóbis, estigmas (cabelo) de milho e pó de café torrado, a partir da análise da capacidade antioxidante pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, do teor de fenólicos totais (TFT) e da capacidade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas. O maior rendimento ($p < 0,05$) do processo de extração foi obtido no extrato de polpa de tamarindo (56,12%), já para os demais extratos, o rendimento variou de 13,5% a 29,54%. O TFT foi superior ($p < 0,05$) no extrato de folha de jabuticaba, 573 mg EAG/100 g, enquanto que para os outros extratos o TFT ficou entre 24,79 e 53,94 mg EAG/100 g. Para a capacidade antioxidante, pelo método DPPH as menores EC_{50} foram em média igual a 0,016 mg/mL nos extratos de folha de jabuticaba, pó de café torrado, semente, polpa e casca de tamarindo, e polpa de jatobá, sem diferenças significativas ($p < 0,05$) entre eles. Pelo método ABTS, as maiores concentrações equivalentes ao Trolox ($p < 0,05$) foram observadas para o extrato de folha de jabuticaba, 3564 μ M Trolox/g, seguido do extrato de polpa e semente de tamarindo, aproximadamente 1794 μ M Trolox/g. No método FRAP os melhores resultados foram dos extratos da casca e semente de tamarindo, folhas de bananeira e folhas de jabuticaba, cerca de 0,0957 mg AG/g, sem diferenças significativas ($p < 0,05$) entre eles. Para a capacidade antimicrobiana, as menores concentrações requeridas para inibir todas as bactérias testadas foram do extrato de polpa de tamarindo, 0,089 g/mL, seguido do extrato de folha de jabuticaba, 0,178 g/mL. Ou seja, os diferentes extratos vegetais analisados apresentaram potencial antioxidante e antimicrobiano, com destaque para os extratos de folha de jabuticaba e polpa de tamarindo, que foram efetivos para reduzir a oxidação e também evitar o

crecimento das bactérias em suas menores concentrações. Além disso, o extrato de polpa de tamarindo apresentou maior rendimento, fato que facilita uma possível aplicação industrial.

Palavras-chave: capacidade antioxidante, capacidade antibacteriana, aditivo natural, extrato vegetal.

ABSTRACT

There are several plant species with potential antioxidant and antimicrobial capacity, due to the presence of bioactive substitutes, which are not so well used. This ability to inhibit the growth of microorganisms and prevent oxidation, make vegetable species the option to replace synthetic additives in the food industry. The objective of this study was to produce and evaluate the bioactive potential of ten methanolic extracts of different plant species: jatobá (bark and pulp), tamarind (bark, pulp and seed), banana leaf, jabuticaba leaf, ora-pro-nóbis leaf, silk of corn and roasted coffee powder. From the analysis of the antioxidant capacity by the DPPH, ABTS and FRAP methods, the total phenolic content (TPC) and antimicrobial capacity against Gram-positive and Gram-negative bacteria. The highest yield ($p < 0.05$) of the extraction process was obtained in the tamarind pulp extract (56.12%), for the other extracts, the yield ranged from 13.5% to 29.54%. The TFC was higher ($p < 0.05$) in the leaf extract of jabuticaba, 573 mg EAG / 100 g, whereas for the other extracts the TFC was between 24.79 and 53.94 mg EAG / 100 g. For the antioxidant capacity, by the DPPH method, the lowest EC_{50} were on average 0.016 mg / mL of extracts of jabuticaba leaf, roasted coffee powder, seed, pulp and bark of tamarind, and jatobá pulp, without significant differences ($p < 0.05$) between them. By ABTS method, the highest trolox equivalent concentrations ($p < 0.05$) were observed for leaf extract of jabuticaba, 3564 μ M Trolox / g, followed by pulp and seed of tamarind extract, about the same 1794 μ M Trolox / g. In the FRAP method, the best results were from the tamarind seeds and bark extracts, banana leaves and jabuticaba leaves, about 0.0957 mg AG / g, without significant differences ($p < 0.05$) between them. For the antimicrobial capacity, the lowest concentrations required to inhibit all bacteria tested were 0.089 g / mL tamarind pulp extract, followed by jabuticaba leaf extract, 0.178 g / mL. That is, the different vegetal extracts analyzed showed antioxidant and antimicrobial potential, especially jabuticaba leaf extracts and tamarind pulp extracts, which were effective in reducing oxidation and also avoiding bacterial growth at the lowest

concentrations. In addition, the tamarind pulp extract presented higher yield, which facilitates a possible industrial application.

Keywords: antioxidant capacity, antibacterial capacity, natural additive, vegetal extract.

1 INTRODUÇÃO

O potencial bioativo de espécies vegetais é conhecido desde os tempos mais antigos. A utilização de plantas, mesmo que de forma empírica, no tratamento de doenças está associado à presença de substâncias ativas com potencial biológico (MARTINS et al., 2013; SYTAR et al., 2016). Esses fitoquímicos, como monoterpenos, saponinas, carotenoides, licopenos, xantofilas, compostos fenólicos, betalainas, entre outros, geralmente estão associados ao metabolismo secundário das plantas, e podem desempenhar importantes papéis na indústria farmacêutica e alimentícia, como antioxidantes e antimicrobianos (DIENAITÉ et al., 2018; FUENTES-ALVENTOSA et al., 2013; MOCAN et al., 2017; RENARD, 2018). Uma forma de concentrar e selecionar os fitoquímicos de interesse presente nessas espécies vegetais é a obtenção de extratos, que dependendo do método de extração empregado poderá aumentar a capacidade antioxidante e antimicrobiana (DAS e EUN, 2018).

Existem diversas espécies vegetais com potencial antioxidante, e elas podem ser alternativa para substituição de antioxidantes sintéticos que apresentam efeitos tóxicos, na indústria de alimentos (COMERT e GOKMEN, 2018; STEINER et al., 2017). Os antioxidantes atuam na conservação dos produtos alimentícios, controlando reações oxidativas que causam alterações indesejáveis nos produtos, como alteração do sabor, degradação de vitaminas, pigmentos e lipídeos e perda do valor nutritivo (CAROCHO et al., 2018). Os antioxidantes atuam retardando ou impedindo a oxidação de biomoléculas, como proteínas, lipídeos, DNA e outras. Eles podem ser classificados como antioxidantes primários, que eliminam ou inativam diretamente os radicais livres, ou antioxidantes secundários, que indiretamente impedem a formação dos radicais livres de formas diversas de atuação, como removedores de oxigênio, agentes quelantes, como sinergistas com antioxidantes primárias, entre outras (DUARTE et al., 2014; KARRE et al., 2013; OH et al., 2013).

O potencial bioativo também está associado à capacidade antimicrobiana, tornando espécies vegetais opção de conservantes naturais para a indústria de alimentos (CASTRO-ROSAS et al., 2017; STEINER et al., 2017). Espécies vegetais são utilizadas na

forma de extratos e podem atuar como conservantes, prevenindo ou retardando o crescimento ou destruindo microrganismos, evitando deterioração e contaminação dos alimentos e consequentemente aumentando a vida de prateleira (GUTIÉRREZ-DEL-RÍO et al., 2018; VILLALOBOS et al., 2017). Os extratos atuam causando danos estruturais e funcionais à célula dos microrganismos, como alterações nas estruturas da parede celular ou alteração de rotas metabólicas (GNIEWOSZ et al., 2013; SYNOWIEC et al., 2014; ULBIN-FIGLEWICZ et al., 2013).

Há diversos estudos relatando o potencial de diversas partes de espécies vegetais para atuação como antioxidante e antimicrobiano, como as folhas (ALARA et al., 2018; ALMOULAH et al., 2017; KAM et al., 2018; MA et al., 2018), óleos (ALQAHTANI et al., 2018; DENG et al., 2018; MEZZA et al., 2018; RAKMAI et al., 2018), chás (LV et al., 2016; JONES et al., 2018; PÉREZ-BURILLO et al., 2018; ZHANG et al., 2018a), sementes (CASTRO et al., 2018; LACZKOWSKI et al., 2018; RAHMAN et al., 2018), casca (AGASTONOVIC-KUSTRIN et al., 2018; AL-QASSABI et al., 2018; KHARCHOUFI et al., 2018); e fruto (LI et al., 2017; PEREIRA et al., 2018; SILVA e SIRASA, 2016; ZHANG et al., 2018b).

Com isso, objetivou-se avaliar o potencial bioativo de dez extratos metanólicos de diversas espécies vegetais: jatobá (casca e polpa), tamarindo (casca, polpa e semente), folha de bananeira, folha de jabuticaba, ora-pro-nóbis, estigmas (cabelo) de milho e pó de café torrado, a partir da análise da capacidade antioxidante por diferentes métodos, do teor de fenólicos totais (TFT) e da capacidade antimicrobiana frente a bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, com o intuito de ampliar os conhecimentos e possíveis aplicações a matérias-primas ainda pouco estudadas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Materiais vegetais

As espécies vegetais foram adquiridas no município de Diamantina, localizado no estado de Minas Gerais no Vale do Jequitinhonha, Lat. (S) 18° 14' 56" e Long. (W) 43° 36' 0". As espécies que foram utilizadas como matérias-primas para o preparo dos extratos vegetais são apresentadas na Tabela 1.

Tabela 1- Espécies vegetais utilizadas para produção de extratos metanólicos.

Espécie Vegetal	Nome Comum	Parte Utilizada
<i>Hymenaea courbaril</i>	Jatobá	Polpa e casca
<i>Tamarindus indica L.</i>	Tamarindo	Polpa, casca e semente
<i>Musa spp.</i>	Bananeira	Folha
<i>Plinia cauliflora</i>	Jabuticabeira	Folha
<i>Pereskia aculeata</i>	Ora-pro-nóbis	Folha
<i>Zea mays</i>	Milho	Estigmas
<i>Coffea arabica</i>	Café	Pó torrado

2.2 Produtos químicos

ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonate), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), TPTZ (2,4,6-tripiridil-8-triazina), Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) foram comprados de Sigma-Aldrich Brasil Ltda - São Paulo (Brasil). Reagente Folin-Ciocalteu foi obtido da Êxodo Científica – Sumaré (Brasil). Ácido gálico foi adquirido da Petroquímicos Comércio e Indústria Ltda. – Diadema (Brasil). Persulfato de potássio comprado de Acros Organics – New Jersey (USA). Ácido clorídrico, cloreto de sódio, etanol absoluto, foram de grau analítico e comprado de LabSynth-Produtos para Laboratórios Ltda. - Diadema (Brasil). Acetato de sódio, cloreto férrico e metanol, de grau analítico, foram adquiridos de Vetec Química Fina Ltda - Duque de Caxias (Brasil). Ácido acético, grau analítico, comprado de Cromoline Química Fina Ltda. Diadema (Brasil). Carbonato de sódio, grau analítico, Dinâmica Química Contemporanea Ltda. Diadema (Brasil). Hidróxido de sódio, grau analítico, Isofar Indústria e Comércio de Produtos Químicos - Duque de Caxias (Brasil). Gentamicina, Brainfarma Indústria Química e Farmaceutica S.A. - Anápolis (Brasil). Ágar Muller Hinton e Caldo Brain Heart Infusion foram adquiridos de HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. Mumbai – Índia.

2.3 Caracterização físico-química das matérias-primas

As amostras foram selecionadas, higienizadas e secas em estufa (DeLeo-A80) a 50°C até peso constante, em seguida, trituradas em moinho de facas até obtenção de um pó.

A umidade foi determinada por gravimetria, em quadruplicada, por secagem da amostra em estufa (DeLeo-A80) a 50 °C até peso constante (AOAC, 2005). O pH foi determinado por meio do potenciômetro, utilizando o phmetro (ION - pH500) calibrado com as soluções tampão (pHs 4,0 e 7,0) (IAL, 2008). O teor de sólidos solúveis totais (SST) foi analisado em refratômetro de bancada (Reichert – r² mini) calibrado com água destilada, e os resultados expressos em °Brix (IAL, 2008). A acidez titulável (AT) foi determinada segundo IAL (2008), 5g da amostra foi diluído em 50 mL de água destilada e titulado com solução de hidróxido de sódio (NaOH) a 0,1 M, o resultado expresso em gramas de ácido cítrico por 100 gramas de amostra.

Toda a caracterização foi realizada seguindo um delineamento inteiramente casualizado (DIC) em quadruplicata e os resultados apresentados em médias e desvios padrões.

2.4 Obtenção dos extratos

Os extratos foram obtidos segundo Chen et al. (2016), com adaptações, o método utilizado foi maceração em manta aquecedora, dez gramas de cada pó vegetal foi embebido em 50 mL de metanol 80% (v /v) e aquecido utilizando uma manta aquecedora (Even) durante duas horas a 50 °C ± 5,0 °C. Após filtração (Whatman N^o. 2) os extratos foram concentrados em banho-maria a 50 °C ± 5,0 °C, em chapa de aquecimento (Tecnal – TE-0181), até que os extratos congelassem a uma temperatura -6,0 °C. O extrato obtido foi acondicionado em embalagem ao abrigo da luz e armazenado em refrigerador (Consul-280) a -6,0 °C. O rendimento de extração de cada material vegetal foi calculado em triplicata e os resultados apresentados em porcentagem (% m/m) de matéria seca e desvio padrão.

2.5 Teor de Fenólicos Totais (TFT)

O TFT foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteu Marinova et al. (2005) com adaptações. Cada extrato metanólico e diluições da solução padrão de ácido gálico (20, 40, 60, 80 e 100 µg mL⁻¹) foram diluídos em 3,6 mL água destilada e adicionados de 0,4 mL do reagente de fenol Folin-Ciocalteu, após 5 minutos foram avolumados com água destilada até um volume final de 10 mL, adicionados 4,0 mL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) a 7% (p/v) e agitadas em vórtex (Biomixer – QL-901). As soluções foram

armazenadas em temperatura ambiente ao abrigo da luz por 60 minutos. Após, as absorbâncias foram medidas a 750 nm em espectrofotômetro (Shimadzu - UVmini-1240). Uma solução contendo apenas metanol 80% (v/v) e os demais reagentes foi utilizada como branco. Os TFT foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100g de extrato metanólico. As análises foram realizadas em triplicata.

2.6 Capacidade Antioxidante “in vitro”

2.6.1 Capacidade de eliminação de radicais DPPH

A análise da capacidade de eliminação de radicais livres dos extratos metanólicos contra o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil foi realizada utilizando o método descrito por Xu et al. (2005). Foi preparada uma solução de 0,1 mM de DPPH. Os extratos metanólicos e o padrão ácido gálico foram diluídos em metanol 80% (v/v) sendo obtidas concentrações que variaram de 0,4 mg mL⁻¹ a 0,0625 mg mL⁻¹, para os extratos, e 0,044 mg mL⁻¹ a 0,0007 mg mL⁻¹, para o padrão ácido gálico. Após, 0,1 mL de cada diluição dos extratos e do padrão ácido gálico foram adicionados a 3,9 mL da solução 0,1mM de DPPH e homogeneizadas em vórtex (Biomixer – QL-901). As soluções foram armazenadas em temperatura ambiente, ao abrigo da luz por 90 minutos e em seguida as absorbâncias a 517 nm utilizando um espectrofotômetro (Shimadzu - UVmini-1240) foram registradas. Como branco, utilizou uma solução de 0,1 mL de metanol 80% (v/v) e 3,9 mL de 0,1 mM de DPPH. As análises foram realizadas em triplicata. A porcentagem de inibição foi calculada pela Equação 1:

$$\% \text{ Inibição} = \left[\frac{(Abs_0 - Abs_1)}{Abs_0} \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 1})$$

Onde, Abs₀ é a absorbância do branco e Abs₁ é a absorbância da amostra. Foi determinado o EC₅₀ para cada extrato, as concentrações mínimas de extrato necessárias para reduzir 50% da concentração inicial radical DPPH, a partir da curva da concentração dos extratos em mg mL⁻¹ vs. % Inibição correspondente. Os resultados também foram expressos em termos de índice de atividade antioxidante (IAA) proposto por Scherer e Godoy (2009), pela Equação 2:

$$IAA = \frac{\text{concentração final de DPPH (mg.mL}^{-1}\text{)}}{EC_{50}(\text{mg.mL}^{-1})} \quad (\text{Eq. 2})$$

Segundo Scherer e Godoy (2009), IAA classifica a atividade antioxidante dos extratos vegetais como: baixa atividade antioxidante quando $IAA < 0,5$, atividade antioxidante moderada quando o IAA estiver entre 0,5 e 1,0, atividade antioxidante forte quando o IAA estiver entre 1,0 e 2,0, e atividade antioxidante muito forte quando o IAA $> 2,0$.

2.6.2 Capacidade de eliminação de radicais ABTS

A capacidade dos extratos metanólicos para eliminar o radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) foram determinadas segundo Rufino et al. (2007). Preparou-se uma solução estoque de ABTS 7 mM e uma solução de persulfato de potássio 140 mM. O radical $ABTS^{•+}$ foi preparado a partir da reação de 5,0 mL da solução estoque de ABTS com 88 μL da solução de persulfato de potássio e mantida a temperatura ambiente ao abrigo da luz, por 16 horas, para a completa reação e estabilização da absorbância. Após, o radical $ABTS^{•+}$ foi diluído em álcool etílico até obter uma absorbância de 0,700 nm \pm 0,050 nm a 734 nm utilizando um espectrofotômetro (Shimadzu - UVmini-1240). Os extratos metanólicos e o padrão Trolox 2 mM foram diluídos em álcool etílico para obtenção de concentrações que variaram de 0,4 mg mL⁻¹ a 0,0625 mg mL⁻¹, para os extratos, e 0,2 mg mL⁻¹ a 0,0015 mg mL⁻¹, para o padrão Trolox. Após, 30 μL de cada diluição dos extratos e da solução padrão de Trolox foram adicionados a 3,0 mL do radical $ABTS^{•+}$ e homogeneizadas em vórtex. (Biomixer – QL-901). Aguardou-se 6 minutos e as absorbâncias foram medidas a 734 nm em espectrofotômetro (Shimadzu - UVmini-1240). Álcool etílico foi utilizado como branco. As análises foram realizadas em triplicata. A atividade antioxidante total (AAT) de cada extrato foi definida a partir da curva da concentração dos extratos em mg mL⁻¹ vs. absorbância, onde substituiu-se a absorbância equivalente a metade da concentração inicial do padrão Trolox, e encontrou a concentração equivalente do extrato. Os resultados foram expressos em $\mu\text{M Trolox g}^{-1}$ de extrato.

2.6.3 Capacidade de redução férrica (FRAP)

A capacidade de redução do ferro dos extratos metanólicos foi determinada segundo Benzie e Strain (1996) com algumas modificações. O reagente FRAP foi preparado utilizando uma solução tampão acetato 300 mmol L⁻¹ (pH final de 3,6), o reagente TPTZ (2,4,6-tripiridil-8-triazina) 10 mmol L⁻¹ em solução de HCl 40 mmol L⁻¹ e solução de FeCl₃ 20 mmol L⁻¹. Essas soluções foram misturadas na proporção (10:1:1) para obtenção do reagente FRAP. Os extratos e o padrão ácido gálico foram diluídos em água Milli-Q para obtenção de concentrações que variaram de 0,4 mg mL⁻¹ a 0,0625 mg mL⁻¹, para os extratos, e 0,044 mg mL⁻¹ a 0,0007 mg mL⁻¹, para o padrão ácido gálico. Após, 0,04 mL de cada diluição foram adicionados a 1,2 mL da solução FRAP e 0,12 mL de água Milli-Q e levados a banho-maria (DeLeo – DL-BMME) a 37 °C por 15 minutos, em seguida, permaneceram por 4 minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, para estabilização. As absorbâncias foram medidas a 593 nm em espectrofotômetro (Shimadzu – Uvmini-1240). Água Milli-Q foi utilizada como branco. As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico g⁻¹ de extrato.

2.7 Determinação da Capacidade Antimicrobiana

2.7.1 Teste de difusão em ágar

O potencial antimicrobiano dos extratos metanólicos foi avaliado contra cepas bacterianas pelo método de difusão em disco em meio sólido de acordo com as normas do National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS, 2003). Foram utilizados microrganismos indicadores Gram-positivos: *Bacillus cereus* (ATCC 6633) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213), e Gram-negativos: *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076) e *Shigella sonnei* (ATCC 25928).

As cepas foram reativadas em ágar Mueller - Hinton a 37 °C durante 24 horas em estufa bacteriológica (Qualxtron). Após, as bactérias foram ajustadas em solução salina estéril até obter uma turbidez correspondente a 0,5 da escala de MacFarland. Em ambiente estéril, 10 µL das soluções bacterianas foram semeadas com o auxílio da alça de Drigalski em placas de Petri contendo o meio ágar Mueller-Hinton. Após a secagem, foram colocados sobre

as placas discos de papel de filtro de 8 mm de diâmetro e adicionados aos discos 20 µL das amostras dos extratos metanólicos, do antibiótico Gentamicina como controle positivo, e de metanol 80% (v/v) como controle negativo. As placas foram incubadas em estufa bacteriológica (Qualxtron) a 37°C por 24 horas. Após este período, os halos de inibição formados foram medidos com um paquímetro digital (King.Tools – 0-150 mm). As análises foram realizadas com quatro repetições.

2.7.2 *Determinação da concentração inibitória mínima (CIM)*

A determinação da CIM foi realizada pelo método de microdiluição em caldo, de acordo com a descrição em NCCLS (2003), com as mesmas culturas bacterianas utilizadas no método de difusão em disco. O experimento foi realizado em placas de microdiluição estéreis em fundo chato com 96 orifícios. Todos os poços receberam 100 µL de caldo infusão cérebro e coração, Brain Heart Infusion (BHI). Em seguida adicionou 100 µL do extrato metanólico, obtendo uma concentração inicial de 50% (1,43 g mL⁻¹) na primeira coluna da placa de microdiluição. As concentrações subsequentes dos extratos foram obtidas após diluição seriada dos extratos na placa de microdiluição, partindo da concentração inicial de 50% (Coluna 1), até 0,024% (Coluna 12). Logo após, foram acrescentados 30 µL da cultura bacteriana em cada poço da placa de microdiluição, e as placas foram incubadas em estufa bacteriológica (Qualxtron) por 24 horas, a 37 °C. Após esse período, foram adicionados 10 µL de cloreto de trifeniltetrazólio (TTC) em cada poço, e as placas foram incubadas por mais 3 horas. A CIM corresponde a maior diluição dos extratos metanólicos na qual não se verifica a presença de multiplicação bacteriana, ou seja, quando sua coloração não fica avermelhada, o que indica a presença de células viáveis. As análises foram realizadas em triplicata.

2.8 *Análises Estatísticas*

Para análise estatística dos resultados foram realizados testes de análise de variância, ANOVA e comparação de médias, Tukey. Para os resultados da análise da atividade antimicrobiana, foi realizado o teste de Dunnett para comparação dos extratos com os controles. Utilizou-se o software Statística 7.1 Statsoft, Inc. a 5% de significância (p<0,05). Os resultados apresentados correspondem à média ± desvio padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização físico-química da matéria-prima

Os resultados da caracterização físico-química estão apresentados na Tabela 2. As características da matéria-prima, como umidade, SST, pH e AT, influenciam nas propriedades finais dos extratos (ZVICEVILIUS et al., 2018). Observa-se que houve uma grande diferença dos parâmetros analisados entre as amostras, isso se deve a heterogeneidade das matérias-primas. Os maiores teores de umidade foram observados para as folhas e estigmas de milho, sendo o maior, 88,81% para a folha de ora-pro-nóbis, os menores valores foram encontrados na polpa e casca de tamarindo, sendo o menor teor de umidade o do pó de café torrado (4,17%). O teor de umidade das matérias-primas é um índice de sua atividade de água e indica a estabilidade e suscetibilidade à contaminação microbiana, além disso, é um fator importante para a determinação precisa dos rendimentos dos extratos (SUSANTO et al., 2017).

Os maiores teores de SST foram encontrados na polpa de tamarindo, 7,75 °Brix, seguido pela polpa de jatobá, 5,03 °Brix, já os menores valores foram os do café em pó, 1,18 °Brix, semente de tamarindo, 1,08 °Brix, e casca de jatobá, 0,93 °Brix. A determinação do teor de SST está relacionado principalmente a quantificação de açúcares solúveis e a presença de ácidos orgânicos na matéria-prima (BURDON et al., 2013; NORDEY et al., 2016). Já em relação ao pH e AT, os valores de pH mais baixos podem ser associados a presença de ácidos orgânicos nas matérias-primas, como pode-se observar na Tabela 2, onde o menor valor de pH, 2,43, e maior teor de AT, 57,99% de ácido cítrico, foram encontrados na polpa de tamarindo, e o maior valor de pH, 6,7, e menor teor de AT, 1,01%, foram encontrados nas folhas de bananeira. Os valores de pH mais baixos, e consequentemente, uma alta concentração de ácidos orgânicos nas matérias-primas, geralmente podem indicar um potencial para utilização destas, na prevenção e controle do crescimento de microrganismos (SOBRAL et al., 2017).

Tabela 2 - Caracterização físico-química das matérias-primas utilizadas para a produção dos extratos metanólicos.

Matéria-prima	Umidade (%)	SST (°Brix)	pH	AT (%)
Polpa de jatobá	15,47 ± 1,33 ^e	5,03 ± 0,05 ^b	5,66 ± 0,01 ^d	3,11 ± 0,68 ^{cd}
Casca de jatobá	8,37 ± 0,24 ^f	0,93 ± 0,05 ^e	5,30 ± 0,03 ^e	1,25 ± 0,10 ^{de}
Polpa de tamarindo	7,75 ± 0,22 ^{fg}	7,18 ± 0,10 ^a	2,43 ± 0,02 ^h	57,99 ± 2,95 ^a
Casca de tamarindo	5,73 ± 0,91 ^{gh}	1,95 ± 0,10 ^c	3,44 ± 0,00 ^g	11,7 ± 1,43 ^b
Semente de tamarindo	8,15 ± 0,25 ^f	1,08 ± 0,10 ^{de}	5,94 ± 0,02 ^c	1,25 ± 0,10 ^{de}
Folha de bananeira	73,80 ± 1,30 ^c	1,23 ± 0,10 ^d	6,57 ± 0,20 ^a	1,01 ± 0,32 ^e
Folha de jabuticaba	30,27 ± 0,80 ^d	2,03 ± 0,05 ^c	4,68 ± 0,02 ^f	3,41 ± 0,36 ^c
Folha ora-pro-nóbis	88,81 ± 0,13 ^a	2,00 ± 0,16 ^c	6,00 ± 0,01 ^{bc}	3,57 ± 0,27 ^c
Estigmas de milho	83,42 ± 2,08 ^b	1,20 ± 0,00 ^d	5,63 ± 0,00 ^d	2,75 ± 0,39 ^{cde}
Pó de café torrado	4,17 ± 0,55 ^h	1,18 ± 0,19 ^{de}	6,14 ± 0,04 ^b	0,974 ± 0,05 ^e

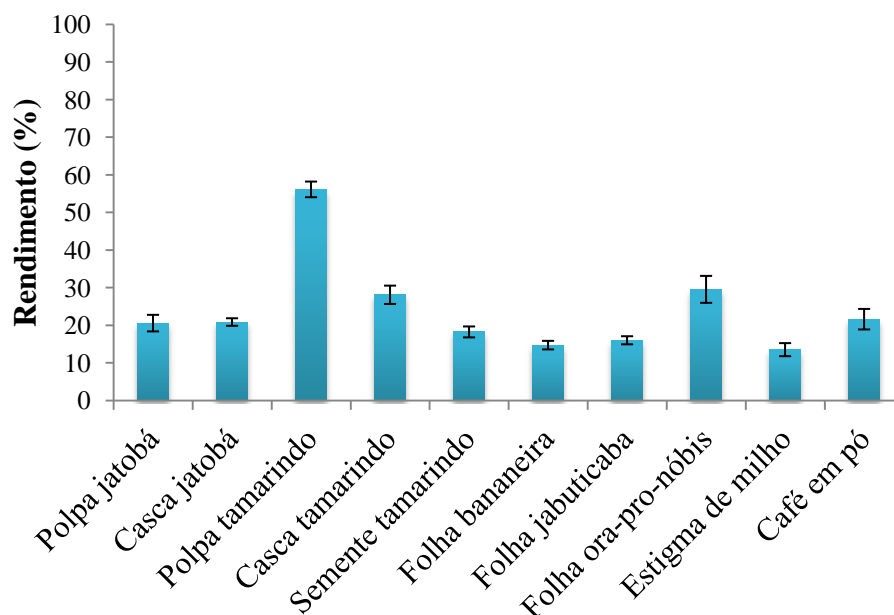
Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

3.2 Rendimento dos extratos metanólicos

Os rendimentos dos processos de extração das amostras por maceração, utilizando como solvente metanol 80% são apresentado na Figura 1. Os maiores rendimentos foram obtidos para a polpa de tamarindo, 56,11%, seguido pela folha de ora-pro-nóbis, 29,54% e casca de tamarindo, 28,09%, já os menores rendimentos foram apresentados para os estigmas de milho, 13,50%, folha de bananeira, 14,71% e folha de jabuticaba, 16,00%.

Os rendimentos obtidos neste estudo para as folhas de bananeira (14,71%), jabuticaba (16,00%) e ora-pro-nóbis (29,54%), são inferiores aos encontrados por Vieitez e colaboradores (2018), que avaliaram o rendimento da produção de extratos utilizando folhas de alecrim (30,00%), boldo (30,60%), cedro (33,90%), pitanga (39,90%), erva-mate (35,80%) e espinheira santa (32,70%), pelo processo de maceração a temperatura ambiente, e etanol 75% como solvente.

Figura 1 - Rendimento (%) dos processos de extração utilizando metanol 80% como solvente.



Já Ballesteros e colaboradores (2017) avaliaram as melhores condições de temperatura, tempo e relação entre o solvente/sólido, em um processo de extração de borras de café, por maceração, utilizando água ultrapura como solvente, e obtiveram um rendimento máximo de 26,06%, no processo a 200 °C, por 50 minutos, com uma relação de 15 mL de solvente/g de amostra. Esse valor é um pouco superior ao encontrado neste estudo para o pó de café torrado, que obteve um rendimento médio de 21,61%. Para as sementes de tamarindo, foi obtido um rendimento de 18,22%, valor próximo ao encontrado por Reis e colaboradores (2016), que obtiveram um rendimento máximo de 21,44%, no processo de extração a uma pressão 250 bar a 50 °C, e etanol como solvente. Já para a casca de tamarindo, neste estudo obteve-se um rendimento de 28,09%, valor superior ao encontrado por Razali e colaboradores (2012), que alcançaram um rendimento máximo de 24,00%, em um processo de maceração a temperatura ambiente por 24 horas e metanol como solvente. O rendimento da extração para a polpa de tamarindo deste estudo, 56,11%, foi consideravelmente superior ao rendimento dos extratos da polpa de tamarindo produzidos por Rai e colaboradores (2018), 16,7%, que o extrato foi obtido por maceração com clorofórmio-água (10 mL de clorofórmio para 1000 mL de água destilada) por sete dias. Em relação ao rendimento dos extratos da casca de jatobá, Veggi e colaboradores (2014), produziram o extrato em um processo de extração com fluido supercrítico, utilizando CO₂ e água como solvente, e obtiveram um rendimento de 24,00%, valor superior, mas, próximo ao desse trabalho, 20,85%. O rendimento do extrato metanólico

do estigma de milho foi 13,50%, valor próximo ao encontrado por Rahman e Rosli (2014), que avaliaram o rendimento de extratos obtidos pelo método de Soxhlet, com acetato de etila, etanol e água como solventes, e obtiveram um rendimento máximo de 13,69%, com água como solvente. Não foram encontrados dados na literatura do rendimento de extratos de polpa de jatobá.

Os processos de extração são realizados com o intuito de isolar, selecionar ou concentrar substâncias de interesse, como os compostos bioativos (PANJA, 2017). As variações da eficiência de extração e das características do extrato final obtido dependem de diversos fatores do processo, como o método de extração empregado, por exemplo, maceração, infusão, ultrassom, micro-ondas ou fluido supercrítico, do solvente utilizado, apolar ou polar, e das características da matéria-prima, como tamanho e composição química (RENARD, 2018). Isso justifica as diferenças observadas para os diversos extratos ao compará-los aos valores encontrados na literatura.

3.3 Teor de fenólicos totais (TFT)

Os compostos fenólicos são um grupo de substâncias abundantemente encontradas em espécies vegetais. Esses metabólitos apresentam comprovada atividade antioxidante, podendo inibir os efeitos da oxidação (MOCAN et al., 2018). Os resultados são apresentados na Tabela 3.

O maior teor de fenólicos foi obtido para as folhas de jabuticaba, 573,54 mg EAG/100 g de extrato, esse valor é consideravelmente inferior aos obtidos por Souza-Moreira e colaboradores (2011), que avaliaram o teor de compostos fenólicos em extratos de folhas de jabuticaba, e obtiveram um teor de fenólicos totais de 635 mg/g, a diferença tão expressiva no teor de fenólicos pode ser atribuída ao processo de extração empregado, pois no estudo de Souza-Moreira e colaboradores (2011), os extratos foram obtidos por exaustiva percolação, a temperatura ambiente, com metanol 70% como solvente, além das diferenças no processo de extração, os resultados foram expressos em equivalência de ácido tânico, um tanino hidrolisável, que ao ser quebrado produz glicose e ácido gálico (MALAYAMAN et al., 2017).

Tabela 3 - Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante "in vitro" pelos métodos DPPH, ABTS e FRAP, dos extratos metanólicos.

Extratos	TFT (mg EAG 100g ⁻¹ de extrato)	DPPH		ABTS (μM Trolox g ⁻¹ extrato)	FRAP (mg AG g ⁻¹ extrato)
		EC ₅₀ (mg mL ⁻¹)	IAA		
Polpa de jatobá	24,79 ± 0,17 ^c	0,017 ± 0,002 ^c	2,30 ± 0,26 ^{MF}	214,67 ± 17,82 ^f	0,0072 ± 0,000 ^f
Casca de jatobá	36,92 ± 0,93 ^{cde}	0,027 ± 0,000 ^b	1,48 ± 0,02 ^F	324,53 ± 7,65 ^{ef}	0,0387 ± 0,026 ^f
Polpa de tamarindo	47,76 ± 3,67 ^{bc}	0,016 ± 0,002 ^c	2,43 ± 0,23 ^{MF}	1708,36 ± 10,79 ^b	0,0468 ± 0,003 ^e
Casca de tamarindo	44,21 ± 10,04 ^{bcd}	0,018 ± 0,000 ^c	2,23 ± 0,03 ^{MF}	1457,71 ± 144,79 ^c	0,0873 ± 0,029 ^{bc}
Semente tamarindo	46,45 ± 0,60 ^{bc}	0,016 ± 0,002 ^c	2,44 ± 0,29 ^{MF}	1880,41 ± 94,26 ^b	0,1501 ± 0,011 ^a
Folha de bananeira	53,94 ± 9,94 ^b	0,044 ± 0,008 ^a	0,92 ± 0,16 ^M	990,85 ± 51,69 ^d	0,0719 ± 0,022 ^{bcd}
Folha de jabuticaba	573,54 ± 21,24 ^a	0,014 ± 0,002 ^c	2,93 ± 0,44 ^{MF}	3564,25 ± 276,83 ^a	0,0737 ± 0,031 ^b
Folha de ora-pro-nóbis	30,59 ± 3,52 ^{de}	0,028 ± 0,000 ^b	1,43 ± 0,01 ^F	251,80 ± 18,93 ^{ef}	0,0620 ± 0,009 ^{de}
Estigma de milho	47,05 ± 1,83 ^{bc}	0,028 ± 0,002 ^b	1,41 ± 0,08 ^F	114,40 ± 7,23 ^{af}	0,0741 ± 0,016 ^{cd}
Pó de café torrado	43,49 ± 0,17 ^{bcd}	0,016 ± 0,002 ^c	2,50 ± 0,06 ^{MF}	491,03 ± 24,03 ^e	0,0455 ± 0,013 ^e

Médias seguidas por letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey (p<0,05). IAA segundo Scherer e Godoy (2009): MF: muito forte; F: forte; M: moderada.

Entre os demais extratos de folhas analisadas, bananeira e ora-pro-nóbis, pode-se observar que houve diferença significativa ($p < 0,05$) dos teores de fenólicos totais, resultado semelhante ao obtido no estudo de Tian e colaboradores (2017) que avaliaram o teor de compostos fenólicos em diferentes extratos de folhas, e resultou em uma grande variação, com um máximo de 860 mg EAG/100 mL de extrato, para as folhas de mirtilo, até 4,0 mg EAG/100 mL de extrato de urtiga.

Os TFT dos extratos de folha de bananeira (53,94 mg EAG/100 g), estigma de milho (47,05 mg EAG/100 g), pó de café torrado (43,49 mg EAG/100 g), polpa (47,76 mg EAG/100 g), casca (44,21 mg EAG/100 g) e semente (46,45 mg EAG/100 g) de tamarindo não diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$). O resultado obtido por Rahman e Rosli (2014) é superior ao do presente estudo, eles avaliaram o teor de compostos fenólicos em extrato aquoso de estigma de milho, e obteve TFT igual a 62,22 mg EAG/ g. Já Sarepoua e colaboradores (2015) avaliaram o teor de fenólicos em extratos metanólicos de estigma de milho de diferentes tipos, e o teor máximo obtidos por eles, 18,91 mg EAG/100 g, foi inferior ao deste estudo. Em um estudo realizado por Karuppiah e Mustaffa (2013), com o intuito de avaliar o teor de compostos fenólicos em extratos metanólicos das folhas de diferentes espécies de bananeiras foram obtidos valores superiores ao deste estudo, os autores encontraram TFT que variaram 372,0 mg EAG/ g a 555,0 mg EAG/ g. Para a casca e a semente de tamarindo, o conteúdo de fenólicos dos extratos metanólicos são inferiores aos obtidos por Razali e colaboradores (2012), para extratos metanólicos da casca, 116,0 mg EAG/ g, e semente, 272,0 mg EAG/ g. Os valores obtidos para o extrato da polpa de tamarindo também são inferiores aos do estudo de Almeida e colaboradores (2011), 83,8 mg EAG/100 g, que avaliaram o teor de compostos fenólicos em polpa de tamarindo. Para o extrato de pó de café torrado, o TFT obtido foi 43,49 mg EAG/100 g, resultado inferior aos obtidos por Ballesteros e colaboradores (2017), que avaliaram vários processos de extração com fluido supercrítico de borras de café, obtendo um teor máximo de 40,36 mg EAG/ g de amostra. Também em um estudo do teor de compostos fenólicos em extratos de borra de café, Mussatto e colaboradores (2011), obtiveram um teor máximo de fenólicos de 16,0 mg EAG/g de amostra, utilizando metanol 60% como solvente, e uma relação de solvente/sólido igual a 40 mg/ mL.

Os menores TFT foram encontrados nas folhas de ora-pro-nóbis (30,59 mg EAG/100 g), casca de jatobá (36,92 mg EAG/100 g) e polpa de jatobá (24,79 mg EAG/100 g). Dias e colaboradores (2013), realizaram um estudo objetivando avaliar o teor de

compostos fenólicos da polpa de jatobá, o teor encontrado foi de 8,60 mg EAG/ g, resultado superior ao deste estudo. Já no estudo de Veggi e colaboradores (2014) avaliando o efeito de diferentes métodos de extração com fluido supercrítico nos teores de compostos fenólicos totais da casca de jatobá, alcançou o conteúdo máximo de 335,00 mg equivalentes de ácido tânico/ g de extrato, esses resultados tão discrepantes podem ser associados as diferenças entre o método de extração empregado e método de análise, cujo o resultado é expresso em equivalência de ácido tânico.

Não foram encontrados dados na literatura do teor de compostos fenólicos em folhas de ora-pro-nóbis.

3.4 Capacidade antioxidante “in vitro”

Há uma grande classe de compostos com atividade antioxidante presente em alimentos, aditivos bioativos e produtos farmacêuticos, como plantas medicinais, que atuam prevenindo ou equilibrando os efeitos prejudiciais das reações oxidativas, sendo de grande interesse a quantificação e identificação dessas substâncias. Existem diversos métodos de determinação da capacidade antioxidante de um composto isolado ou de amostras reais, que podem apresentar uma composição complexa de antioxidantes (POLAK et al., 2013; ZAMANI, et al., 2018; ZIYATDINOVA et al., 2017).

3.4.1 Capacidade de eliminação de radicais DPPH

O método de determinação da capacidade antioxidante pela eliminação de radicais DPPH é baseado em reações das substâncias antioxidantes presentes na amostra com o radical livre DPPH[•], as amostras avaliadas atuam transferindo átomos de hidrogênio, e elétrons, ou como sequestradores do radical livre, convertendo-o a uma molécula mais estável. Os resultados podem ser expressos como uma fração dos radicais reduzidos pela reação, como a concentração equivalente a de antioxidantes padrões individuais, ou como a concentração necessária para reduzir 50% da concentração inicial de DPPH[•] (EC₅₀) (CARMONA-JIMENÉZ et al., 2014; ZAMANI et al., 2018; ZIYATDINOVA et al., 2017).

Os resultados da determinação da capacidade antioxidante dos extratos metanólicos das amostras são apresentados na Tabela 3. As menores concentrações necessárias para reduzir 50% da concentração inicial do radical DPPH[•] foram dos extratos de

folha de jabuticaba (0,014 mg/mL), pó de café torrado (0,015 mg/mL), semente (0,016 mg/mL), polpa (0,016 mg/mL) e casca (0,018 mg/mL) de tamarindo, e polpa de jatobá (0,017 mg/mL), não havendo diferenças significativas ($p < 0,05$) entre elas, e o índice da atividade antioxidante (IAA) destas amostras foram classificados como muito forte, $IAA > 2,0$.

No presente estudo, para o extrato de folha de jabuticaba foi requerido EC_{50} inferior ao obtido por Leite-Legatti e colaboradores (2012) ao avaliarem a capacidade antioxidante de frutos de jabuticaba, onde os autores encontraram um valor de EC_{50} igual a 0,045 mg/mL. Em relação ao extrato de pó de café torrado, Kwak e colaboradores (2017) avaliaram a capacidade antioxidante do extrato aquoso do pó de café torrado, e o obtiveram uma porcentagem de sequestro do radical DPPH[•] de 63,74%. Para o extrato de semente de tamarindo, o valor obtido neste estudo para o EC_{50} , foi superior, mas próximo ao obtido por Reis e colaboradores (2016), que avaliaram a capacidade antioxidante de extratos de semente de tamarindo, em um processo de extração com fluido supercrítico e etanol 50%, resultando em um EC_{50} igual a 0,0089 mg/mL. No estudo de Siddhuraju (2007), avaliando a atividade antioxidante para o extrato metanólico da casca da semente de tamarindo, foi obtido um EC_{50} igual a 39,05 mg de amostra seca/g de DPPH. Tril e colaboradores (2014) avaliaram a capacidade antioxidante da polpa de tamarindo em extrato metanólico, e obtiveram um EC_{50} de 29,68 mg/g amostra. Razali e colaboradores (2012) avaliaram a capacidade antioxidante dos extratos da casca de tamarindo obtidos por diferentes solventes (etanol, metanol e hexano), pelo método DPPH, e expressaram seus resultados em equivalência ao padrão Trolox, resultou-se em uma atividade antioxidante igual a 1,19 mmol Trolox/g peso seco utilizando etanol, 2,34 mmol Trolox/g peso seco utilizando metanol e 0,73 mmol Trolox/g peso seco utilizando hexano, indicando o metanol como o melhor solvente para extração de substâncias com potencial antioxidante. Analisando a atividade antioxidante da polpa de jatobá, Dias e colaboradores (2013), obtiveram um EC_{50} igual a 49,04 g de amostra/g.

Os extratos metanólicos da casca de jatobá, folha de ora-pro-nóbis e estigma de milho, foram considerados de forte atividade antioxidante, com um $1,0 < IAA < 2,0$. Não houve diferença estatística ($p < 0,05$) do EC_{50} destes três extratos, sendo o valor do EC_{50} da casca de jatobá igual a 0,027 mg/mL, da folha de ora-pro-nóbis, 0,028 mg/mL e do estigma de milho, 0,028 mg/mL. Avaliando a capacidade antioxidante de diferentes extratos da casca de jatobá, Veggi e colaboradores (2014) obtiveram um resultado inferior ao deste estudo, pois o menor EC_{50} foi igual a 0,20 mg/mL para o extrato com CO₂ e água como solventes, e o maior igual a 7,08 mg/mL com CO₂ e etanol como solventes. Para o estigma de milho, Zilic e

colaboradores (2016) avaliaram a capacidade antioxidante do extrato preparado com acetona aquosa a 70% como solvente e estigmas de dois estádios de maturação, e obtiveram valores de EC₅₀ que variaram de 0,043 a 0,239 mg/mL.

O extrato da folha de bananeira apresentou a menor capacidade antioxidante dentre as amostras analisadas, com um EC₅₀ igual a 0,044 mg/mL, e um IAA considerado moderado. Apesar do valor EC₅₀ do extrato metanólico da folha de bananeira ser maior neste estudo, eles são melhores que os resultados obtidos por Srikanth e colaboradores (2013), que avaliaram a capacidade antioxidante de folhas de bananeira utilizando diferentes solventes, e obtiveram o menor EC₅₀, 0,116 mg/mL, no extrato hidroalcoólico.

3.4.2 Capacidade de eliminação de radicais ABTS

A Tabela 3 apresentam os resultados da capacidade antioxidante pelo método de eliminação de radicais ABTS, onde os valores estão expressos concentração equivalente de Trolox em mM/g de extrato. Assim como no método de determinação da capacidade antioxidante pela eliminação de radicais DPPH, o método ABTS avalia a capacidade da amostra em reduzir o radical ABTS^{•+}, ocasionando consequentemente, alteração da coloração (FLOEGEL et al., 2011; SCHAICH e XIE, 2015).

O extrato de folhas de jabuticaba, dentre os extratos analisados, foi o que apresentou a maior capacidade antioxidante pelo método ABTS, com uma concentração igual a 3564,25 µM Trolox/g. Esses valores são inferiores aos do estudo da capacidade antioxidante dos frutos da jabuticaba realizados por Leite-Legatti e colaboradores (2012), onde o ensaio ABTS resultou em um valor de 9458,00 µM Trolox/g de fruto. Essa grande diferença entre a atividade antioxidante dos frutos e dos extratos da folha de jabuticaba pode ser atribuída à presença de diversas substâncias bioativas no fruto, principalmente na casca (NEVES et al., 2018; PIMENTA et al., 2018).

Não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os extratos da polpa (1708,36 µM Trolox/g), e semente (1880,41 µM Trolox/g) de tamarindo. Razali e colaboradores (2012) utilizaram solventes diferentes para a extração da semente de tamarindo, alcançando resultados melhores que o deste estudo quando utilizou metanol como solvente, 2880,0 µM Trolox/g de amostra seca, já com o hexano (900,00 µM Trolox/g), e etanol (770,00 µM Trolox/g) a capacidade antioxidante foi inferior. Para a polpa de tamarindo, a capacidade antioxidante alcançada neste estudo foi superior ao resultado de Almeida e

colaboradores (2011), que avaliaram a capacidade antioxidante da polpa de tamarindo e obtiveram um valor de 8,32 μM Trolox/g. Os extratos da casca de tamarindo, 1457,71 μM Trolox/g, e da folha de bananeira, 990,85 μM Trolox/g, diferiram estatisticamente de todas as amostras analisadas. O resultado obtido para o extrato da casca de tamarindo é superior aos alcançados por Razali e colaboradores (2012), que foi de 1320,00 μM Trolox/g peso seco, para o extrato utilizando metanol como solvente, 890,00 μM Trolox/g para o extrato com etanol como solvente, e 430,00 μM Trolox/g utilizando hexano como solvente. O extrato da folha de bananeira apresentou uma maior capacidade antioxidante que a farinha da casca de banana, 242,2 μM Trolox/g (REBELLO et al., 2014), isso pode ser atribuído ao maior teor de compostos fenólicos nas folhas de bananeira que na casca dos frutos (MATHEW e NEGI, 2017).

A atividade antioxidante dos extratos do pó de café torrado, 491,03 μM Trolox/g, da casca de jatobá, 324,53 μM Trolox/g, e da folha de ora-pro-nóbis, 251,80 μM Trolox/g, não diferiram estatisticamente entre si ($p < 0,05$). Na avaliação da capacidade antioxidante pelo método ABTS, de bebidas de café produzidas por grãos com diferentes graus de torrefação, Liang e colaboradores (2016) obtiveram o melhor resultado para os grãos levemente torrados, com a atividade antioxidante igual a 610,00 μM Trolox/g, resultado superior ao desse estudo. Já o estudo de Bravo e colaboradores (2013), avaliou a influência do processo de extração na capacidade antioxidante de borras de café, e constatou-se uma variação entre 92,98 a 140,30 μM Trolox/g, resultado inferior ao do ensaio da capacidade antioxidante deste estudo. Para a casca de jatobá, este estudo obteve resultados inferiores aos do ensaio de Contreras-Calderón e colaboradores (2011), da capacidade antioxidante pelo método ABTS, que foi igual a 428,00 μM Trolox/g. Entretanto, para a polpa de jatobá, o extrato metanólico deste estudo resultou em uma capacidade antioxidante de 214,67 μM Trolox/g, valor bem superior ao encontrado por Contreras-Calderón e colaboradores (2011), que foi de 26,7 μM Trolox/g.

Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os extratos de casca de jatobá (324,53 μM Trolox/g), folha de ora-pro-nóbis (251,80 μM Trolox/g), polpa de jatobá (214,67 μM Trolox/g) e estigma de milho (114,40 μM Trolox/g). No estudo da capacidade antioxidante pelo método ABTS de extratos milho, utilizando metanol 95% acidificado como solvente, Saikaew e colaboradores (2018), observaram uma capacidade antioxidante igual a 31,25 μM Trolox/g, resultado inferior ao deste trabalho para o extrato metanólico do estigma de milho.

3.4.3 Capacidade de redução férrica (FRAP)

O método de avaliação da capacidade antioxidante pela redução férrica, assim como os demais, avalia a capacidade da amostra em atuar como agente redutor, ou seja, de doar elétrons para determinada substância. A diferença entre os três métodos está na substância que será reduzida, que pode ser o radical DPPH[•], ou o radical ABTS^{•+}, ou no caso do método FRAP, as amostras são avaliadas quanto à capacidade de reduzir o ferro férrico (Fe³⁺) a ferro ferroso (Fe²⁺), pois os íons metálicos podem ser responsáveis por catalisar reações de peroxidação lipídica, ocasionando a formação de radicais livres (GRZESIK et al., 2018; JONES et al., 2017; TRIL et al., 2014).

Os resultados da capacidade antioxidante dos dez extratos metanólicos são apresentados na Tabela 3. A maior capacidade antioxidante observada foi do extrato da semente de tamarindo, 0,150 mg AG/g, que foi superior a capacidade antioxidante do extratos da casca de tamarindo, 0,087 mg AG/g e aproximadamente três vezes superior a polpa de tamarindo, 0,047 mg AG/g. Isto também foi observado no estudo de Razali e colaboradores (2012), onde o extrato metanólico da semente de tamarindo apresentou uma capacidade antioxidante pelo ensaio FRAP, superior as do extrato da casca. Soong e Barlow (2004) analisando a capacidade antioxidante das sementes e polpa de tamarindo, também constataram que a capacidade de reduzir Fe³⁺ a Fe²⁺ da semente foi superior à capacidade da polpa.

A casca de tamarindo, 0,087 mg AG/g, folha de jabuticaba, 0,106 mg AG/g e folha de bananeira, 0,084 mg AG/g, não diferiram estatisticamente entre si (p<0,05). A capacidade antioxidante do extrato do estigma de milho, 0,080 mg AG/g, foi estatisticamente igual (p<0,05) aos extratos de casca de tamarindo, folhas de bananeira e ora-pro-nóbis (0,062 mg AG/g). Rebello e colaboradores (2014) avaliaram a capacidade antioxidante da farinha de casca de banana pelo método FRAP, e utilizaram o Trolox como padrão para expressar o resultado, 0,0035 mg Trolox/g. Também utilizando o Trolox como padrão, Saikaew e colaboradores (2018) obtiveram uma atividade antioxidante igual a 0,005 mg Trolox/g, em extratos de milho produzidos com metanol acidificado. Também não houve diferenças estatísticas (p<0,05) entre os extratos de pó de café torrado, 0,053 mg AG/g, polpa de tamarindo e folha de ora-pro-nóbis. Paz e colaboradores (2015) avaliaram a capacidade antioxidante pelo método FRAP de diversas polpas de frutas brasileiras, e expressaram os

resultados em equivalência ao ácido ascórbico, o resultado para a capacidade de reduzir o íon férrico da polpa de tamarindo foi igual a 6,15 mg ácido ascórbico/g.

Os extratos de polpa de jatobá, 0,007 mg AG/g, e da casca de jatobá, 0,015 mg AG/g, foram os que apresentaram as menores capacidades de redução do Fe^{3+} a Fe^{2+} .

3.5 Determinação da Capacidade Antibacteriana

O ensaio de difusão em ágar foi utilizado para uma primeira avaliação da capacidade antimicrobiana dos extratos frente a bactérias que afetam comumente alimentos (PAZ et al., 2015), tendo em vista o uso dos extratos como aditivos em alimentos e embalagens.

A capacidade antibacteriana dos extratos, relatadas como halos de inibição são apresentados na Tabela 4. O extrato metanólico da folha de jabuticaba foi efetivo frente ao maior número de bactérias, com a maior atividade frente a *S. aureus*, 16,55 mm, *B. cereus*, 15,01 mm, e *S. enteritidis*, 17,03 mm, não havendo diferença estatística entre elas ($p < 0,05$). Seguido pelas bactérias *E. coli*, 6,34 mm, e *S. typhimurium*, 9,88 mm, sem diferença significativa entre elas ($p < 0,05$). O extrato da folha de jabuticaba não apresentou atividade apenas para *S. sonnei*. Oliveira e colaboradores (2011) analisaram a capacidade antimicrobiana do extrato de folha de jabuticaba, obtido pelo processo de percolação exaustiva com etanol 70%, frente às bactérias *S. aureus* e *E. coli*, e os resultados dos halos de inibição foram, 12,36 mm e 11,45 mm, respectivamente. Os resultados dos halos de inibição das bactérias *S. aureus* estão próximos aos obtidos por Baldin e colaboradores (2016) que avaliaram o potencial antimicrobiano do extrato do fruto de jabuticaba microencapsulado, e obtiveram uma atividade de 14 a 18 mm de halos de inibição, para as concentrações de 100 e 300 mg/mL, respectivamente, já para *E. coli* a atividade antimicrobiana do extrato microencapsulado de jabuticaba, igual a 13 e 15 mm de halos de inibição, foi superior ao deste estudo. Silva e colaboradores (2014) avaliaram a capacidade antimicrobiana do extrato aquoso de semente e casca de jabuticaba, frente a bactérias Gram (+) e Gram (-), resultando em halos de inibição para *S. aureus*, 12,00 mm e *E. coli*, 10,50 mm, mas sem atividade para *S. enteritidis*. Os principais compostos presentes na folha de jabuticaba, associados à atividade antimicrobiana, são os compostos fenólicos, como flavonoides e taninos, e ácidos orgânicos. Já para os frutos de jabuticaba as atividades biológicas são associadas às antocianinas, um

composto fenólico amplamente encontrado nas cascas do fruto (BORGES et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2014; SOUZA-MOREIRA et al., 2010).

O extrato da casca de tamarindo apresentou halos de inibição frente às bactérias *S. aureus*, 11,63 mm, *B. cereus*, 11,36 mm, *E. coli*, 11,49 mm e *S. enteritidis*, 12,37 mm, e não houve diferença significativa entre elas ($p < 0.05$). Esses valores são superiores aos obtidos por Nwod e colaboradores (2011), que avaliaram a capacidade antibacteriana dos extratos, aquoso e etanólico, da casca do tronco das árvores de tamarindo, e alcançaram o melhor resultado para o extrato etanólico, com halos de inibição igual a 10,00 mm para *E. coli*, 18,00 mm para a cepa NRRL 14724 *B. cereus*, e 10,50 mm para a cepa NRRL 14725 *B. cereus*. Os extratos não apresentaram atividade frente a *S. aureus*. No ensaio realizado por Al-Fatimi e colaboradores (2007) para avaliar a capacidade antibacteriana do extrato metanólico das flores de tamarindo, foram observados resultados superiores ao do presente estudo para inibição de *S. aureus*, halo de inibição igual a 28,00 mm e *E. coli*, halo de inibição igual a 18,00 mm.

Tabela 4 - Halos de inibição (mm) dos extratos metanólicos, controles positivos e negativos, frente às bactérias Gram (+) e Gram (-).

	Gram (+)		Gram (-)			
	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. sonnei</i>
Polpa de jatobá	15,12 ± 0,63 ^{Ba**}	-	-	-	-	-
Casca de jatobá	12,79 ± 0,51 ^{Ca**}	10,89 ± 0,38 ^{Cb**}	12,58 ± 1,39 ^{Aab**}	-	-	-
Polpa de tamarindo	10,20 ± 0,91 ^{Ea**}	11,05 ± 0,57 ^{Ca**}	-	-	10,44 ± 0,37 ^{Ca**}	-
Casca de tamarindo	11,63 ± 0,24 ^{CDa**}	11,36 ± 0,47 ^{BCa**}	11,49 ± 1,04 ^{Aa**}	-	12,37 ± 0,50 ^{Ba**}	-
Semente de tamarindo	12,93 ± 0,36 ^{Cb**}	15,91 ± 0,98 ^{BCa**}	-	-	-	-
Folha de bananeira	-	-	-	-	-	-
Folha de jabuticaba	16,55 ± 0,55 ^{Aa**}	15,01 ± 3,18 ^{BCa**}	6,34 ± 0,86 ^{Bb**}	9,88 ± 0,76 ^{Ab**}	17,03 ± 0,85 ^{Aa**}	-
Folha ora-pro-nóbis	-	-	-	-	-	-
Estigma de milho	-	33,54 ± 4,94 ^{Aa ns*}	-	-	7,32 ± 0,21 ^{Eb**}	-
Pó de café torrado	11,28 ± 0,58 ^{DEb**}	17,84 ± 4,05 ^{Ba**}	-	-	8,73 ± 0,94 ^{Db**}	-
Metanol 80% (-)	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00
Gentamicina (+)	30,58 ± 5,86	31,27 ± 1,19	29,28 ± 3,53	28,46 ± 3,29	32,16 ± 2,49	27,92 ± 1,58

Médias seguidas por letras maiúsculas diferentes na mesma coluna e letras minúsculas diferentes na mesma linha indicam diferenças estatísticas significativas pelo teste de Tukey (p<0,05).

**Diferença significativa do controle (+) e controle (-) pelo teste de Dunnett (p<0,05).

ns*Diferença não significativa com o controle (+) e significativa com o controle (-) pelo teste de Dunnett (p<0,05).

O extrato da polpa de tamarindo apresentou halos de inibição frente às bactérias Gram (+) *S. aureus*, 10,20 mm e *B. cereus*, 11,05 mm, e a bactéria Gram (-) *S. enteritidis*, 10,44 mm, não possuindo diferença significativa entre elas ($p < 0,05$). Já o extrato da semente de tamarindo só apresentou atividade frente às bactérias Gram (+) *S. aureus*, 12,93 mm e *B. cereus*, 15,91 mm, sendo o halo de inibição para o *B. cereus* significativamente ($p < 0,05$) superior ao do *S. aureus*. Paz e colaboradores (2015) utilizaram o extrato etanólico da polpa de tamarindo e observaram atividade antimicrobiana frente às bactérias *E. coli*, *Salmonella* sp. e *S. aureus*, com halos de inibição igual a 9,0 mm, 10,0 mm e 10,0 mm, respectivamente. No trabalho de Debnath e colaboradores (2011), foi produzido um extrato etanólico com a polpa e semente de tamarindo, e ao analisaram a capacidade do extrato em inibir bactérias, observou-se uma maior atividade frente às bactérias Gram (-) *E. coli*, halo de inibição entre 15-20 mm, e *Pseudomonas aeruginosa*, halo de inibição entre 20-24 mm, que para as bactérias Gram (+) *S. aureus* e *B. subtilis* os halos de estavam entre 6-10 mm. Adamu e colaboradores (2005) investigaram a atividade antimicrobiana do extrato aquoso de frutos de tamarindo, e verificaram que os extratos do fruto foram capazes de inibir *Proteus mirabilis* e *S. aureus*, com halos de inibição menor que 15 mm, o que caracteriza uma fraca inibição, o extrato não foi capaz de inibir o crescimento de *E. coli* e *P. aeruginosa*. A casca, polpa e semente de tamarindo, são constituídas de diversos compostos com potencial bioativo, como os terpenos, catenina, procianidina, catequinas, ácido tartárico e ácidos graxos. As concentrações destes compostos podem variar com a espécie utilizada, a região de colheita, idade da planta, e manejos pós-colheita (KURU, 2014; REIS et al., 2016).

Para o extrato da casca de jatobá foi verificada atividade antibacteriana frente às cepas de *S. aureus*, *B. cereus* e *E. coli*, com halos de inibição iguais a 12,79 mm, 10,89 mm e 12,58 mm, respectivamente. O halo de inibição produzido para *E. coli* não diferiu significativamente dos demais ($p < 0,05$), entretanto houve diferença significativa entre as bactérias Gram (+). Já o extrato da polpa de jatobá só apresentou capacidade de inibir o crescimento de *S. aureus*, com um halo de inibição igual a 15,12 mm. Martins e colaboradores (2010) também avaliaram a capacidade antimicrobiana de extratos da casca e polpa de jatobá, mas utilizando como solvente etanol 96%, frente às bactérias *S. aureus*, *Enterococcus faecalis*, *E. coli*, *Shigella flexneri*, *P. aeruginosa* e *Salmonella choleraesuis*, resultando em halos de inibição iguais a 14,66 mm para *S. aureus*, 11,33 mm para *E. faecalis* e 14,33 para *S. flexneri*, e não houve inibição para os demais microrganismos. O estudo realizado por Fernandes e colaboradores (2005), para avaliar a capacidade antimicrobiana do extrato

hidroalcoólico das entrecascas da árvore de jatobá, frente a diferentes cepas de *S. aureus* e *E. coli*, resultou em halos de inibição que variaram entre 6,0-14,0 mm para as cepas de *S. aureus*, e para as cepas de *E. coli*, apenas uma delas foi inibida, com o halo igual a 12,0 mm. As atividades biológicas do jatobá são atribuídas à presença de fitoquímicos como os terpenos, compostos fenólicos e oligossacarídeos, sendo a atividade antimicrobiana associada ao conteúdo de procianidinas, um tanino, flavonoide, reconhecido pela sua atividade antimicrobiana (BONIFACE et al., 2017; VEGGI et al., 2014).

O extrato metanólico do pó de café torrado inibiu o crescimento das bactérias Gram (+) *S. aureus* e *B. cereus*, com halos de inibição igual a 11,28 mm e 17,84 mm, respectivamente, e para a bactéria Gram (-) *S. enteritidis*, com o halo de inibição igual a 8,73 mm. Houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre o halo de inibição *B. cereus* e os demais halos de inibição. Duangjai e colaboradores (2016) investigaram a capacidade antimicrobiana do extrato aquoso da farinha da polpa de café, frente às bactérias *S. aureus*, *Staphylococcus epidermidis*, *P. aeruginosa* e *E. coli*, e observaram halos de inibição iguais a 12,0 mm, 16,0 mm, 10,0 mm, 10,0 mm, respectivamente. O halo de inibição deste estudo, para a bactéria *S. aureus* é próximo ao obtido por Duangjai et al. (2016), já para *E. coli*, neste estudo não houve inibição, enquanto o extrato aquoso apresentou atividade antimicrobiana. O estudo realizado por Getachew e Chun (2016), analisou a capacidade antimicrobiana do extrato aquoso do café em pó verde, oriundo de diferentes países. Para o café produzido no Brasil, foram observados halos de inibição frente às cepas de *E. coli*, 14,5 mm, *S. aureus*, 25,6 mm, *B. cereus*, 15,2, *S. typhimurium*, 12,6 mm, *Listeria monocytogenes*, 10,2 mm. O resultado superior para algumas bactérias analisadas no estudo de Getachew e Chun (2016) pode está associado à conservação de alguns compostos bioativos que podem ser degradados pelo processo de torrefação do café. A composição de substâncias bioativas no pó café depende do tipo do grão de café, das condições de torrefação e do processo de extração. Dentre os principais compostos bioativos presente no café associados à atividade antimicrobiana, destacam-se os diterpenos, os compostos fenólicos, como ácido cafeico e ácido cumárico, e em menores concentrações os taninos condensados e hidrolisáveis (KOVALCIK et al., 2018; SAID et al., 2018).

O extrato metanólico do estigma de milho foi capaz de inibir o crescimento do *B. cereus*, com um halo de inibição igual a 33,54 mm, e da *S. enteritidis*, halo de inibição igual a 7,32 mm. Sendo este o único extrato que apresentou atividade antimicrobiana próxima ao do controle positivo, Gentamicina, para a cepa *B. cereus*. Romero e colaboradores (2005) avaliaram a capacidade antimicrobiana do extrato etanólico de estigma de milho frente às

cepas *S. aureus*, *E. coli* e *P. aeruginosa*. O extrato etanólico só foi capaz de inibir o crescimento de *S. aureus*, com um halo de inibição igual a 1,0 mm. Alan (2011) investigou a atividade antimicrobiana de estigma de milho Egípcio, e não observou nenhuma atividade frente às bactérias *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *S. aureus* e *Streptococcus pyogenes*. A atividade antimicrobiana dos estigmas de milho está associada à presença e a concentração dos polifenóis, terpenos, ácido clorogênico e fitoesteróis, que dependem do estágio de maturação do milho e da espécie utilizada (AUKKANIT et al., 2015; RAFSANJANY et al., 2015; SAREPOUA et al., 2015).

Os extratos metanólicos das folhas de bananeira e ora-pro-nóbis não apresentaram capacidade de inibição do crescimento frente às bactérias testas na concentração bruta.

Em relação aos microrganismos analisados, os mais susceptíveis a inibição do crescimento pelos extratos metanólicos foram às bactérias Gram (+). A maior resistência das bactérias Gram (-) pode ser associada à estrutura da sua membrana celular. Já que essas bactérias, como *E. coli*, *S. enteritidis*, *S. typhimurium* e *S. sonnei*, possuem em sua membrana celular um complexo sistema de bicamada lipídica, que dificulta a ação de agentes antimicrobianos, enquanto as bactérias Gram (+) como *S. aureus* e *B. cereus*, a membrana celular apresenta uma única camada espessa de peptidoglicano (SILVA et al., 2014).

O crescimento de *S. aureus* foi inibido por quase todos os extratos analisados, com exceção aos extratos de folha de bananeira, folha de ora-pro-nóbis e estigma de milho. Dentre eles, o maior halo de inibição foi observado para o extrato de folha de jabuticaba (16,55 mm), seguido pelo extrato de polpa de jatobá (15,12 mm), o menor halo de inibição foi observado para o extrato de polpa de tamarindo (10,20 mm). *S. aureus* é uma bactéria patogênica encontrada no ambiente, alimentos, água e solo, que pode ser responsável por doenças transmitidas por alimentos aos seres humanos, sendo considerada como uma das ameaças mais significativas para a saúde pública. Ela é naturalmente encontrada na pele, mucosa e flora do nariz, cerca de 30 a 50% da população é portadora desta bactéria (RUBAD et al., 2018). A presença dessa bactéria nos alimentos é frequente, devido à manipulação inadequada de alimentos pelos portadores desse microrganismo (ALHASHIMI et al., 2017). *S. aureus* resiste a condições de baixa atividade de água e temperaturas mais elevadas, podendo crescer até em ambientes salinos, e em ampla faixa de pH. Além disso, *S. aureus* é capaz de produzir toxinas resistentes ao processamento térmico, baixo pH, secagem e congelamento, sendo de grande importância para a indústria de alimentos a inibição do seu

crescimento (CHANG et al., 2017). Os principais alimentos relacionados com intoxicação causada por *S. aureus* são produtos cárneos, leite, laticínio e hortaliças (YOON et al., 2018).

Houve a inibição do crescimento do *B. cereus* também por quase todos os extratos analisados, com exceção dos extratos da polpa de tamarindo, folhas de bananeira e ora-pro-nóbis. O melhor resultado dos halos de inibição foi para o extrato de estigma de milho (33,54 mm), que apresentou uma capacidade de inibição sem diferença significativa ($p < 0,05$) do controle positivo, Gentamicina (31,27 mm). Já os extratos de polpa de tamarindo (11,05 mm) e casca de jatobá (10,89 mm), apresentaram os menores halos de inibição. *B. cereus* é uma bactéria patogênica e uma das mais comuns causas de deterioração de alimentos (MINGMING et al., 2018). Ela está amplamente distribuída na natureza, podendo ser encontrada no solo, água, vegetais, matéria em decomposição, trato intestinal de animais e insetos. É um microrganismo mesofílico, com faixa de temperatura de crescimento entre 10 e 50 °C, e capaz de crescer em pH acima de 4,3. Esta bactéria apresenta a capacidade de formação de esporos, sendo estes resistentes ao calor e aos processos de secagem e congelamento (ORGANJI et al., 2015; OSIMANI et al., 2018). *B. cereus* é responsável pela produção de toxinas, que podem ser termoestáveis, causadoras de doenças gastrointestinais. Os principais alimentos que ocorrem à contaminação são o leite cru e laticínios, carne, legumes e arroz cozido (WEI et al., 2018).

Apenas os extratos da casca de jatobá, casca de tamarindo e folha de jabuticaba, foram capazes de inibir o crescimento de *E. coli* nas concentrações brutas. Os melhores resultados foram para os extratos da casca de jatobá (12,58 mm) e casca de tamarindo (11,49 mm), não havendo diferenças significativas entre eles ($p < 0,05$). *E. coli* agrupa diversas cepas que estão onipresentes no trato intestinal de humanos e animais, e em ambientes abertos (ALONSON et al., 2018; HASSAN, 2018), a maioria dessas cepas são inofensivas, mas algumas produzem uma citotoxina capaz de causar graves doenças em seres humanos (DARYAEI et al., 2018). A presença de *E. coli* em alimentos é associada a falta de higiene durante o processamento, sendo a sua presença considerada um indicador de contaminação fecal (NASCIMENTO et al., 2018), e ocorre principalmente em vegetais frescos, bebidas ácidas, carne moída e mal cozida, queijo curado e leite cru (KIM et al., 2017).

Para a inibição do crescimento das *S. typhimurium* e *S. enteritidis* pelos extratos pode-se observar uma maior resistência do sorovar *S. typhimurium*, pois apenas um extrato, o de folha de jabuticaba, foi capaz de inibir o crescimento na concentração bruta. Essa

diferença entre a resistência destes sorovares já era esperada, pois elas pertencem a grupos diferentes de sorotipos, *S. typhimurium* (sorogrupo B) e *S. enteritidis* (sorogrupo D) (EECKHAUT et al., 2018). A resistência de determinados microrganismos aos agentes antimicrobianos está associado à permeabilidade da parede celular, modificação do local de ação do antimicrobiano, ou a destruição ou inativação do antimicrobiano (GONI et al., 2018). As *Salmonellas* são bactérias patogênicas, e um dos principais causadores de surtos de origem alimentar em todo o mundo, e sua contaminação em alimentos considerada uma séria ameaça à saúde pública (ANSARI et al., 2017). Os principais alimentos responsáveis pela contaminação por *S. typhimurium* e *S. enteritidis* são ovos crus ou mal cozidos, vegetais, frutas e aves (HU et al., 2018).

Nenhum dos extratos foi capaz de inibir o crescimento de *S. sonnei* nas concentrações brutas. *S. sonnei* é uma bactéria patogênica responsável pela maioria das infecções gastrointestinais que ocorrem em todo o mundo (ZHANG et al., 2018). Essa bactéria apresenta grande semelhança às bactérias *E. coli*, sendo muitas vezes difícil a diferenciação (BELD e REUBSAET, 2012). Humanos e outros primatas são os únicos portadores naturais de *S. sonnei*, mas elas podem ser transmitidas por alimentos e água potável (QU et al., 2012). A *S. sonnei* apresenta potencial para causar grandes surtos devido a sua baixa dose infecciosa (10 células) (CETINKAYA et al., 2008).

A diferença entre as atividades antimicrobianas dos extratos pode ser atribuída à variada concentração de compostos fenólicos, teor de açúcar e ácidos orgânicos das amostras (BALDIN et al., 2016; SILVA et al., 2014).

As concentrações inibitórias mínimas (CIM) dos extratos metanólicos frente às seis bactérias, *S. aureus*, *B. cereus*, *E. coli*, *S. typhimurium*, *S. enteritidis* e *S. sonnei*, são apresentadas na Tabela 5. O extrato de polpa de tamarindo apresentou as menores concentrações inibitórias mínimas para as bactérias analisada, 11,3 mg/mL para *S. sonnei*, 22,3 mg/mL para *B. cereus* e *S. typhimurium*, 44,6 mg/mL para *E. coli* e *S. enteritidis*, e 89,3 mg/mL, para *S. aureus*. No estudo de Paz e colaboradores (2015) também avaliando a capacidade antimicrobiana do extrato de polpa de tamarindo, as concentrações determinadas foram inferiores aos do presente estudo. As CIM observadas por eles para *E. coli*, *P. aeruginosa*, *Salmonella* sp., *S. aureus* e *L. monocytogenes* foram, respectivamente, 25 mg/mL, 10 mg/mL, 12,5 mg/mL, 25,0 mg/mL, 25 mg/mL. Nwod e colaboradores (2011) também avaliaram a CIM de extratos da polpa de tamarindo produzidos com diferentes solventes, e obteve concentrações que variaram de 7,81 mg/mL contra *B. subtilis* a 31,25

mg/mL contra *E. coli*. As CIM do extrato da casca de tamarindo variou de 89,3 mg/mL a 357,0 mg/mL. No estudo de Nwod e colaboradores (2011) também foram analisadas a capacidade de inibição do extrato etanólico da casca da árvore de tamarindo, e o resultado para *E. coli* ATCC 11775, *P. aeruginosa* ATCC 10145, *B. subtilis* ATCC 6051, *B. cereus* NRRL 14724 e *B. cereus* NRLL 14725, foram respectivamente, 31,25 mg/mL, 7,81 mg/mL, 7,81 mg/mL, 15,63 mg/mL e 62,50 mg/mL. Al-Fatimi e colaboradores (2007) avaliaram as concentrações inibitórias dos extratos de flores de tamarindo, e obteve os melhores resultados utilizando água como solvente, a CIM obtida para *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli* e *P. aeruginosa*, foi igual 0,125 mg/mL.

O extrato da folha de jabuticaba também apresentou baixas CIM, ao compará-los com os demais extratos deste estudo, elas variaram de 22,3 mg/mL para *B. cereus*, a 178,0 mg/mL para *S. sonnei*. Oliveira e colaboradores (2011) também investigaram a capacidade de inibir o crescimento de bactérias do extrato de folha de jabuticaba, e os resultados foram CIM superiores aos deste estudo para *S. aureus*, 1250 mg/mL, e *E. coli*, 2500 mg/mL. Já para os extratos de frutos de jabuticaba microencapsulado, Baldin e colaboradores (2016) obtiveram uma CIM igual a 18,75 mg/mL para *E. coli* e *S. aureus*. Silva e colaboradores também avaliaram a CIM em extratos aquoso de frutos de jabuticaba e obteve para *E. coli*, 25 mg/mL e *S. aureus*, 12,5 mg/mL.

O extrato da polpa de jatobá também apresentou CIM relativamente baixas para as bactérias analisadas, com exceção da *S. enteritidis* (357,0 mg/mL), ao comparar com os demais extratos. As maiores CIM foram observadas para o extrato da casca de jatobá, a menor CIM deste extrato foi para o *B. cereus*, 89,3 mg/mL e a maior para *S. enteritidis*, 1428,0 mg/mL. Martins e colaboradores (2010) analisaram a capacidade de inibir o crescimento bacteriano do extrato bruto etanólico da casca e polpa de jatobá, e observou que CIM para as bactérias: *S. aureus*, *E. faecalis*, *E. coli*, *S. flexneri*, *P. aeruginosa* e *S. choleraesuis*, deve ser maior que 0,40 mg/mL para as cascas e polpas.

Tabela 5 - Concentrações inibitórias mínimas em mg ml⁻¹ dos extratos metanólicos.

Extratos	<i>S. aureus</i>	<i>B. cereus</i>	<i>E. coli</i>	<i>S. typhimurium</i>	<i>S. enteritidis</i>	<i>S. sonnei</i>
Polpa de jatobá	89,3	44,6	44,6	44,6	357,0	44,6
Casca de jatobá	714,0	89,3	714,0	714,0	1428,6	714,0
Polpa de tamarindo	89,3	22,3	44,6	22,3	44,6	11,3
Casca de tamarindo	357,0	714,0	178,0	89,3	357,0	178,0
Semente de tamarindo	178,0	178,0	714,0	714,0	357,0	714,0
Folha de bananeira	714,0	714,0	89,3	357,0	357,0	357,0
Folha de jabuticaba	44,6	22,3	89,3	89,3	44,6	178,0
Folha ora-pro-nóbis	178,0	357,0	357,0	178,0	178,0	357,0
Estigma de milho	714,0	357,0	357,0	357,0	357,0	357,0
Pó de café torrado	357,0	357,0	357,0	357,0	357,0	357,0

O extrato do pó de café torrado obteve a mesma CIM para todas as bactérias analisadas, 357,0 mg/mL. Investigando a capacidade do extrato aquoso da farinha da polpa de café em inibir o crescimento de bactérias, Duangjai e colaboradores (2016) encontram CIM para *S. aureus*, *S. epidermidis*, *P. aeruginosa* e *E. coli*, que foram, respectivamente, iguais a 37,5 mg/mL, 4,69 mg/mL, 75,0 mg/mL e 37,5 mg/mL. Getachew e Chun (2016) avaliaram a CIM do extrato aquoso do café em pó verde produzido no Brasil, e obteve a menor CIM para *S. aureus*, 5,0 mg/mL, e a maior para *E. coli*, 25 mg/mL.

Apesar dos extratos metanólicos das folhas de bananeira e ora-pro-nóbis não terem apresentado atividade antimicrobiana pelo teste de difusão em disco, ao serem diluídos eles foram capazes de inibir o crescimento das bactérias analisadas, isso pode está associado à dificuldade de difusão no meio de cultura que algumas substâncias apolares apresentam (MORENO et al., 2006). As CIM do extrato da folha de ora-pro-nóbis foi igual a 178,0 mg/mL para *S. aureus*, *S. typhimurium* e *S. enteritidis*, e igual a 357,0 mg/mL para *E. coli*, *B. cereus* e *S. sonnei*. Para o extrato da folha de bananeira a CIM variou de 89,3 mg/mL para *E. coli*, a 714,0 mg/mL para *S. aureus* e *B. cereus*. No estudo realizado por Karuppiah e Mustaffa (2013) avaliaram a CIM do extrato metanólico de diferentes cultivars de folhas de bananeira frente às bactérias *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. flexneri* e *S. aureus*, e para todas obtiveram uma CIM inferior ao deste trabalho, a CIM observada por eles foi igual a 0,25 mg/mL. Para os extratos de estigma de milho, a CIM para o *B. cereus*, 714,0 mg/mL foi superior a dos demais microrganismos, 357,0 mg/mL.

4 CONCLUSÕES

Neste estudo, extratos metanólicos de diferentes matérias-primas apresentaram potencial como fonte de compostos fenólicos, com características antioxidantes e antimicrobianas. Dentre as amostras analisadas, o principal extrato fonte de compostos fenólicos foi obtido das folhas de jabuticaba. Em relação à capacidade antioxidante e antimicrobiana, pode-se perceber uma grande heterogeneidade dos resultados, devido as grandes diferenças entre as matérias-primas. Em relação à capacidade antioxidante, vários extratos apresentaram boa capacidade antioxidante pelos métodos de análise utilizados, destaque para os extratos de folha de jabuticaba, polpa, casca e semente de tamarindo, que apresentaram os melhores resultados em pelo menos dois dos métodos de análise. Já para a capacidade antimicrobiana, observou-se que os extratos ao serem diluídos para análise da

concentração inibitória mínima, foram mais efetivos na inibição do crescimento dos microrganismos. Sendo o extrato de polpa de tamarindo o que requereu as menores concentrações para inibição frente a todas as bactérias. Além disso, esse extrato apresentou um rendimento consideravelmente superior aos demais, fato que facilita uma possível aplicação futura.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADAMU, H. M.; ABAYEH, O. J.; AGHO, M. O.; ABDULLAHI, A. L.; UBA, A.; DUKKU, H. U.; WUFEM, B. M. An ethnobotanical survey of Bauchi State herbal plants and their antimicrobial activity. **Journal of ethnopharmacology**, v. 99(1), p. 1-4, 2005.

AGATONOVIC-KUSTRIN, S.; KUSTRIN, E.; MORTON, D. W. Phenolic acids contribution to antioxidant activities and comparative assessment of phenolic content in mango pulp and peel. **South African Journal of Botany**, v. 116, p. 158-163, 2018.

ALAM, E. A. Evaluation of antioxidant and antibacterial activities of Egyptian Maydis stigma (*Zea mays* hairs) rich in some bioactive constituents. **J. Am. Sci**, v. 7, p. 726-729, 2011.

ALARA, O. R.; ABDURAHMAN, N. H.; OLALERE, O. A. Optimization of microwave-assisted extraction of flavonoids and antioxidants from *Vernonia amygdalina* leaf using response surface methodology. **Food and Bioproducts Processing**, v. 107, p. 36-48, 2018.

AL-FATIMI, M.; WURSTER, M.; SCHRÖDER, G.; LINDEQUIST, U. Antioxidant, antimicrobial and cytotoxic activities of selected medicinal plants from Yemen. **Journal of ethnopharmacology**, v. 111(3), p. 657-666, 2007.

ALHASHIMI, H. M. M.; AHMED, M. M.; MUSTAFA, J. M. Nasal carriage of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* among food handlers in Kerbala city. **Karbala International Journal of Modern Science**, v. 3(2), p. 69-74, 2017.

ALMEIDA, M. M. B.; de SOUSA, P. H. M.; ARRIAGA, Â. M. C.; do PRADO, G. M.; de CARVALHO MAGALHÃES, C. E.; MAIA, G. A.; de LEMOS, T. L. G. Bioactive compounds and antioxidant activity of fresh exotic fruits from northeastern Brazil. *Food Research International*, v. 44(7), p. 2155-2159, 2011.

ALMOULAH, N. F.; VOYNIKOV, Y.; GEVRENOVA, R.; SCHOHN, H.; TZANOVA, T.; YAGI, S.; SPINA, R. Antibacterial, antiproliferative and antioxidant activity of leaf extracts of selected Solanaceae species. *South African Journal of Botany*, v. 112, p. 368-374, 2017.

ALONSO, C. A.; CORTÉS-CORTÉS, G.; MAAMAR, E.; MASSÓ, M.; DEL CARMEN ROCHA-GRACIA, R.; TORRES, C.; QUIROGA, M. P. Molecular diversity and conjugal transferability of class 2 integrons among *Escherichia coli* isolates from food, animal and human sources. *International journal of antimicrobial agents*, v. 51(6), p. 905-911, 2018.

ALQAHTANI, F. Y.; ALEANIZY, F. S.; MAHMOUD, A. Z.; FARSHORI, N. N.; ALFARAJ, R.; AL-SHEDDI, E. S.; ALSARRA, I. A. Chemical composition and antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Lepidium sativum* seed oil. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 2018.

AL-QASSABI, J. S. A.; WELI, A. M.; HOSSAIN, M. A. Comparison of total phenols content and antioxidant potential of peel extracts of local and imported lemons samples. *Sustainable Chemistry and Pharmacy*, v. 8, p. 71-75, 2018.

ANSARI, N.; YAZDIAN-ROBATI, R.; SHAHDORDIZADEH, M.; WANG, Z.; GHAZVINI, K. Aptasensors for quantitative detection of *Salmonella typhimurium*. *Analytical biochemistry*, v. 533, p. 18-25, 2017.

AOAC - Official methods of analysis (16th ed.). Washington, DC: Association of Official Analytical Chemists. 2005.

AUKKANIT, N.; KEMNGOEN, T.; PONHARN, N. Utilization of Corn Silk in Low Fat Meatballs and Its Characteristics. *Procedia-Social and Behavioral Sciences*, v. 197, p. 1403-1410, 2015.

BALDIN, J. C.; MICHELIN, E. C.; POLIZER, Y. J.; RODRIGUES, I.; de GODOY, S. H. S.; FREGONESI, R. P.; FERNANDES, A. M. Microencapsulated jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) extract added to fresh sausage as natural dye with antioxidant and antimicrobial activity. **Meat science**, v. 118, p. 15-21, 2016.

BALLESTEROS, L. F.; RAMIREZ, M. J.; ORREGO, C. E.; TEIXEIRA, J. A.; MUSSATTO, S. I. Optimization of autohydrolysis conditions to extract antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. **Journal of food engineering**, v. 199, p. 1-8, 2017.

van den BELD, M.; REUBSAET, F. A. G. Differentiation between *Shigella, enteroinvasive Escherichia coli* (EIEC) and noninvasive *Escherichia coli*. **European journal of clinical microbiology & infectious diseases**, v. 31(6), p. 899-904, 2012.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. **Analytical biochemistry**, v. 239(1), p. 70-76, 1996.

BONIFACE, P. K.; FERREIRA, S. B.; KAISER, C. R. Current state of knowledge on the traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of the genus *Hymenaea*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 206, p. 193-223, 2017.

BORGES, L. L.; CONCEIÇÃO, E. C.; SILVEIRA, D. Active compounds and medicinal properties of *Myrciaria genus*. **Food chemistry**, v. 153, p. 224-233, 2014.

BURDON, J.; LALLU, N.; PIDAKALA, P.; BARNETT, A. Soluble solids accumulation and postharvest performance of ‘Hayward’ kiwi fruit. **Postharvest biology and technology**, v. 80, p. 1-8, 2013.

BRAVO, J.; MONENTE, C.; JUÁNIZ, I.; DE PEÑA, M. P.; CID, C. Influence of extraction process on antioxidant capacity of spent coffee. **Food Research International**, v. 50(2), p. 610-616, 2013.

CARMONA-JIMÉNEZ, Y.; GARCÍA-MORENO, M. V.; IGARTUBURU, J. M.; BARROSO, C. G. Simplification of the DPPH assay for estimating the antioxidant activity of wine and wine by-products. **Food chemistry**, v. 165, p. 198-204, 2014.

CAROCHO, M.; MORALES, P.; FERREIRA, I. C. Antioxidants: Reviewing the chemistry, food applications, legislation and role as preservatives. **Trends in Food Science & Technology**. v. 71, p. 107-120, 2017.

CASTRO, A. C. C. M.; ODA, F. B.; ALMEIDA-CINCOTTO, M. G. J.; DAVANÇO, M. G.; CHIARI-ANDRÉO, B. G.; CICARELLI, R. M. B.; ISAAC, V. L. B. Green coffee seed residue: A sustainable source of antioxidant compounds. **Food chemistry**, v. 246, p. 48-57, 2018.

CASTRO-ROSAS, J.; FERREIRA-GROSSO, C. R.; GÓMEZ-ALDAPA, C. A.; RANGEL-VARGAS, E.; RODRÍGUEZ-MARÍN, M. L.; GUZMÁN-ORTIZ, F. A.; FALFAN-CORTES, R. N. Recent advances in microencapsulation of natural sources of antimicrobial compounds used in food-A review. **Food Research International**. v. 102, p. 575-587, 2017.

CETINKAYA, F.; CIBIK, R.; SOYUTEMIZ, G. E.; OZAKIN, C.; KAYALI, R.; LEVENT, B. *Shigella* and *Salmonella* contamination in various foodstuffs in Turkey. **Food Control**, v. 19(11), p. 1059-1063, 2008.

CHANG, Y.; YOON, H.; KANG, D. H.; CHANG, P. S.; RYU, S. Endolysin LysSA97 is synergistic with carvacrol in controlling *Staphylococcus aureus* in foods. **International journal of food microbiology**, v. 244, p. 19-26, 2017.

CHEN, Q.; FUNG, K. Y.; LAU, Y. T.; NG, K. M.; LAU, D. T. Relationship between maceration and extraction yield in the production of Chinese herbal medicine. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 236-243, 2016.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**. v. 105, p. 76-93, 2018.

CONTRERAS-CALDERÓN, J.; CALDERÓN-JAIMES, L.; GUERRA-HERNÁNDEZ, E.; GARCÍA-VILLANOVA, B. Antioxidant capacity, phenolic content and vitamin C in pulp, peel and seed from 24 exotic fruits from Colombia. **Food research international**, v. 44(7), p. 2047-2053, 2011.

DARYAEI, H.; PEÑALOZA, W.; HILDEBRANDT, I.; KRISHNAMURTHY, K.; THIRUVENGADAM, P.; WAN, J. Heat inactivation of Shiga toxin-producing *Escherichia coli* in a selection of low moisture foods. **Food Control**, v. 85, p. 48-56, 2018.

DAS, P. R.; EUN, J. B. A comparative study of ultra-sonication and agitation extraction techniques on bioactive metabolites of green tea extract. **Food Chemistry**. v. 253, p. 22-29, 2018.

DEBNATH, S.; RAHMAN, S. H.; DESHMUKH, G.; DUGANATH, N.; PRANITHA, C.; CHIRANJEEVI, A. Antimicrobial screening of various fruit seed extracts. **Pharmacognosy Journal**, v. 3(19), p. 83-86, 2011.

DENG, J.; LIU, Q.; ZHANG, Q.; ZHANG, C.; LIU, D.; FAN, D.; YANG, H. Comparative study on composition, physicochemical and antioxidant characteristics of different varieties of kiwifruit seed oil in China. **Food chemistry**, v. 264, p. 411-418, 2018.

DIAS, L. S.; LUZIA, D. M.; JORGE, N. Physicochemical and bioactive properties of *Hymenaea courbaril* L. pulp and seed lipid fraction. **Industrial crops and products**, v. 49, p. 610-618, 2013.

DIENAITĖ, L.; PUKALSKIENĖ, M.; MATIAS, A. A.; PEREIRA, C. V.; PUKALSKAS, A.; VENSKUTONIS, P. R. Valorization of six *Nepeta* species by assessing the antioxidant potential, phytochemical composition and bioactivity of their extracts in cell cultures. **Journal of Functional Foods**, v. 45, p. 512-522, 2018.

DUANGJAI, A.; SUPHROM, N.; WUNGRATH, J.; ONTAWONG, A.; NUENGCHAMNONG, N.; YOSBOONRUANG, A. Comparison of antioxidant,

antimicrobial activities and chemical profiles of three coffee (*Coffea arabica* L.) pulp aqueous extracts. **Integrative medicine research**, v. 5(4), p. 324-331, 2016.

DUARTE, A. F. S.; HIROTA, B. C. K.; DE OLIVEIRA, V. B.; CAMPOS, R.; MURAKAMI, F. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Avaliação da atividade antioxidante e antimicrobiana do extrato etanólico bruto e frações orgânicas obtidas a partir da casca do caule da espécie *Guettarda uruguensis* Cham. e Schtdl.(Rubiaceae). **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 35(4), p. 607-614, 2015

EECKHAUT, V.; HAESBROUCK, F.; DUCATELLE, R.; VAN IMMERSEEL, F. Oral vaccination with a live *Salmonella enteritidis/typhimurium* bivalent vaccine in layers induces cross-protection against caecal and internal organ colonization by a *Salmonella* Infantis strain. **Veterinary microbiology**, v. 218, p. 7-12, 2018.

FERNANDES, T. T.; SANTOS, A. T. F. D.; PIMENTA, F. C. Atividade antimicrobiana das plantas *Plathymenia reticulata*, *Hymenaea courbaril* e *Guazuma ulmifolia*. 2005.

FLOEGEL, A.; KIM, D. O.; CHUNG, S. J.; KOO, S. I.; CHUN, O. K. Comparison of ABTS/DPPH assays to measure antioxidant capacity in popular antioxidant-rich US foods. **Journal of food composition and analysis**, v. 24(7), p. 1043-1048, 2011.

FUENTES-ALVENTOSA, J. M.; JARAMILLO-CARMONA, S.; RODRÍGUEZ-GUTIÉRREZ, G.; GUILLÉN-BEJARANO, R.; JIMÉNEZ-ARAUJO, A.; FERNÁNDEZ-BOLAÑOS, J.; RODRÍGUEZ-ARCOS, R. Preparation of bioactive extracts from asparagus by-product. **Food and Bioproducts Processing**, v. 91(2), p. 74-82, 2013.

GETACHEW, A. T.; CHUN, B. S. Influence of hydrothermal process on bioactive compounds extraction from green coffee bean. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 38, p. 24-31, 2016.

GNIEWOSZ, M.; SYNOWIEC, A.; KRAŚNIEWSKA, K.; PRZYBYŁ, J. L.; BĄCZEK, K.; WĘGLARZ, Z. The antimicrobial activity of pullulan film incorporated with meadowsweet

flower extracts (*Filipendulae ulmariae flos*) on postharvest quality of apples. **Food Control**, v. 37, p. 351-361, 2014.

GONI, A. M.; EFFARIZAH, M. E.; RUSUL, G. Prevalence, antimicrobial resistance, resistance genes and class 1 integrons of *Salmonella* serovars in leafy vegetables, chicken carcasses and related processing environments in Malaysian fresh food markets. **Food Control**, v. 91, p. 170-180, 2018.

GRZESIK, M.; NAPARŁO, K.; BARTOSZ, G.; SADOWSKA-BARTOSZ, I. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. **Food Chemistry**, v. 241, p. 480-492, 2018.

GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I.; FERNÁNDEZ, J.; LOMBÓ, F. Plant nutraceuticals as antimicrobial agents in food preservation: terpenoids, polyphenols and thiols. **International journal of antimicrobial agents**. 2018.

HEMEG, H. A. Molecular characterization of antibiotic resistant *Escherichia coli* isolates recovered from food samples and outpatient Clinics, KSA. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 2018.

HU, L.; MA, L. M.; ZHENG, S.; HE, X.; HAMMACK, T. S.; BROWN, E. W.; ZHANG, G. Development of a novel loop-mediated isothermal amplification (LAMP) assay for the detection of *Salmonella* ser. *enteritidis* from egg products. **Food Control**, v. 88, p. 190-197, 2018.

IAL - Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

JONES, A.; PRAVADALI-CEKIC, S.; DENNIS, G. R.; BASHIR, R.; MAHON, P. J.; SHALLIKER, R. A. Ferric reducing antioxidant potential (FRAP) of antioxidants using reaction flow chromatography. **Analytica chimica acta**, v. 967, p. 93-101, 2017.

JONES, A.; ACQUAVIVA, A.; DENNIS, G. R.; SHALLIKER, R. A.; SOLIVEN, A. Bioactive screening of complex tea samples using the ferric reducing antioxidant power assay incorporating reaction flow HPLC columns for post column derivatisations. **Microchemical Journal**. v. 138, p. 197-202, 2018.

KAM, W. Y. J.; MIRHOSSEINI, H.; ABAS, F.; HUSSAIN, N.; HEDAYATNIA, S.; CHONG, H. L. F. Antioxidant activity enhancement of biodegradable film as active packaging utilizing crude extract from durian leaf waste. **Food Control**, v. 90, p. 66-72, 2018.

KARRE, L.; LOPEZ, K.; GETTY, K. J. Natural antioxidants in meat and poultry products. **Meat science**, v. 94(2), p. 220-227, 2013.

KARUPPIAH, P.; MUSTAFFA, M. Antibacterial and antioxidant activities of *Musa* sp. leaf extracts against multidrug resistant clinical pathogens causing nosocomial infection. **Asian Pacific journal of tropical biomedicine**, v. 3(9), p. 737-742, 2013.

KHARCHOUFI, S.; LICCIARDELLO, F.; SIRACUSA, L.; MURATORE, G.; HAMDY, M.; RESTUCCIA, C. Antimicrobial and antioxidant features of ‘Gabsi’ pomegranate peel extracts. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 345-352, 2018.

KIM, J.; KIM, M.; KIM, S.; RYU, S. Sensitive detection of viable *Escherichia coli* O157: H7 from foods using a luciferase-reporter phage phiV10lux. **International journal of food microbiology**, v. 254, p. 11-17, 2017.

KOVALCIK, A.; OBRUCA, S.; MAROVA, I. Valorization of Spent Coffee Grounds: A review. **Food and Bioproducts Processing**. v. 110, p. 104-119, 2018.

KURU, P. *Tamarindus indica* and its health related effects. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4(9), p. 676-681, 2014.

KWAK, H. S.; JI, S.; JEONG, Y. The effect of air flow in coffee roasting for antioxidant activity and total polyphenol content. **Food Control**, v. 71, p. 210-216, 2017.

LACZKOWSKI, M. S.; GONÇALVES, T. R.; GOMES, S. T.; MARÇO, P. H.; VALDERRAMA, P.; MATSUSHITA, M. Application of chemometric methods in the evaluation of antioxidants activity from degreased chia seeds extracts. **LWT**, v. 95, p. 303-307, 2018.

LEITE-LEGATTI, A. V.; BATISTA, Â. G.; DRAGANO, N. R. V.; MARQUES, A. C.; MALTA, L. G.; RICCIO, M. F.; de CARVALHO, J. E. Jaboticaba peel: Antioxidant compounds, antiproliferative and antimutagenic activities. **Food Research International**, v. 49(1), 596-603, 2012.

LI, X.; LONG, Q.; GAO, F.; HAN, C.; JIN, P.; ZHENG, Y. Effect of cutting styles on quality and antioxidant activity in fresh-cut pitaya fruit. **Postharvest Biology and Technology**, v. 124, p. 1-7, 2017.

LIANG, N.; XUE, W.; KENNEPOHL, P.; KITTS, D. D. Interactions between major chlorogenic acid isomers and chemical changes in coffee brew that affect antioxidant activities. **Food chemistry**, v. 213, p. 251-259, 2016.

LV, H. P.; ZHANG, Y.; SHI, J.; LIN, Z. Phytochemical profiles and antioxidant activities of Chinese dark teas obtained by different processing technologies. **Food Research International**, v. 100, p. 486-493, 2017.

MA, C. M.; CHENG, C. L.; LEE, S. C.; HONG, G. B. Antioxidant capacity, insecticidal ability and heat-oxidation stability of *Tagetes lemmonii* leaf extract. **Ecotoxicology and environmental safety**, v. 151, p. 68-75, 2018.

MALAYAMAN, V.; SISUBALAN, N.; SENTHILKUMAR, R. P.; RANJITHKUMAR, R. Chitosan mediated enhancement of hydrolysable tannin in *Phyllanthus debilis* Klein ex Willd via plant cell suspension culture. **International journal of biological macromolecules**, v. 104, p. 1656-1663, 2017.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASSOVA, M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. **Journal of the university of chemical technology and metallurgy**, v. 40(3), p. 255-260, 2005.

MARTINS, G. C. H. M.; SOUZA, F. R.; FONSECA, C.; CASEMIRO, L. A.; FURTADO, N. A. J. C.; AMBROSIO, S. R.; CUNHA, W. R. Determinação in vitro da Atividade Antibacteriana dos Extratos Brutos da Casca e Polpa Farinácea de *Hymenaea courbaril* L. **Investigação**, v. 10, p. 2-3, 2010..

MARTINS, S.; AMORIM, E. L.; SOBRINHO, T. J. P.; SARAIVA, A. M.; PISCIOTTANO, M. N.; AGUILAR, C. N.; MUSSATTO, S. I. Antibacterial activity of crude methanolic extract and fractions obtained from *Larrea tridentata* leaves. **Industrial Crops and Products**, v. 41, p. 306-311, 2013.

MATHEW, N. S.; NEGI, P. S. Traditional uses, phytochemistry and pharmacology of wild banana (*Musa acuminata* Colla): A review. **Journal of ethnopharmacology**, v. 196, p. 124-140, 2017.

MEZZA, G. N.; BORGARELLO, A. V.; GROSSO, N. R.; FERNANDEZ, H.; PRAMPARO, M. C.; GAYOL, M. F. Antioxidant activity of rosemary essential oil fractions obtained by molecular distillation and their effect on oxidative stability of sunflower oil. **Food chemistry**, v. 242, p. 9-15, 2018.

MINGMING, D.; QI, D.; XU, M.; LU, Z.; LV, F.; BIE, X.; ZHAO, H. Antibacterial activity and mechanism of monolauroyl-galactosylglycerol against *Bacillus cereus*. **Food Control**, v. 85, p. 339-344, 2018.

MOCAN, A.; ZENGİN, G.; MOLLICA, A.; UYSAL, A.; GUNES, E.; CRIȘAN, G.; AKTUMSEK, A. Biological effects and chemical characterization of *Iris schachtii* Markgr. extracts: A new source of bioactive constituents. **Food and Chemical Toxicology**. v. 112, p. 448-457, 2017.

MOCAN, A.; DIUZHEVA, A.; CARRADORI, S.; ANDRUCH, V.; MASSAFRA, C.; MOLDOVAN, C.; MARCONI, G. D. Development of novel techniques to extract phenolic compounds from Romanian cultivars of *Prunus domestica* L. and their biological properties. **Food and Chemical Toxicology**, 2018.

MORENO, S.; SCHEYER, T.; ROMANO, C. S.; VOJNOV, A. A. Antioxidant and antimicrobial activities of rosemary extracts linked to their polyphenol composition. **Free radical research**, v. 40(2), p. 223-231, 2006.

MUSSATTO, S. I.; BALLESTEROS, L. F.; MARTINS, S.; TEIXEIRA, J. A. Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. **Separation and Purification Technology**, v. 83, p. 173-179, 2011.

NASCIMENTO, M. S.; CARMINATI, J. A.; SILVA, I. C. R. N.; SILVA, D. L.; BERNARDI, A. O.; COPETTI, M. V. *Salmonella*, *Escherichia coli* and *Enterobacteriaceae* in the peanut supply chain: From farm to table. **Food Research International**, v. 105, p. 930-935, 2018.

NCCLS. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved standard M7-A6. NCCLS, Wayne, Pa. 2003.

NCCLS. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A8. NCCLS, Wayne, Pa. 2003.

NEVES, N. A.; STRINGHETA, P. C.; GÓMEZ-ALONSO, S.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flavonols and ellagic acid derivatives in peels of different species of jabuticaba (*Plinia* spp.) identified by HPLC-DAD-ESI/MS n. **Food Chemistry**. v. 252, p. 61-71, 2018.

NORDEY, T.; LÉCHAUDEL, M.; GÉNARD, M.; JOAS, J. Factors affecting ethylene and carbon dioxide concentrations during ripening: Incidence on final dry matter, total soluble solids content and acidity of mango fruit. **Journal of plant physiology**, v. 196, p. 70-78, 2016.

NWODO, U. U.; OBIYEKE, G. E.; CHIGOR, V. N.; OKOH, A. I. Assessment of *Tamarindus indica* extracts for antibacterial activity. **International journal of molecular sciences**, v. 12(10), p. 6385-6396, 2011.

OH, J.; JO, H.; CHO, A. R.; KIM, S. J.; HAN, J. Antioxidant and antimicrobial activities of various leafy herbal teas. **Food control**, v. 31(2), p. 403-409, 2013.

OLIVEIRA, L. A. D.; SOUZA-MOREIRA, T. M. D.; CEFALI, L. C.; CHIARI, B. G.; CORRÊA, M. A.; ISAAC, V. L. B.; PIETRO, R. C. L. R. Design of antiseptic formulations containing extract of *Plinia cauliflora*. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 47(3), p. 525-533, 2011.

de OLIVEIRA, P. M. A.; de ALMEIDA, R. H.; de OLIVEIRA, N. A.; BOSTYN, S.; GONCALVES, C. B.; de OLIVEIRA, A. L. Enrichment of diterpenes in green coffee oil using supercritical fluid extraction—Characterization and comparison with green coffee oil from pressing. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 95, p. 137-145, 2014.

ORGANJI, S. R.; ABULREESH, H. H.; ELBANNA, K.; OSMAN, G. E. H.; KHIDER, M. Occurrence and characterization of toxigenic *Bacillus cereus* in food and infant feces. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 5(7), p. 515-520, 2015.

OSIMANI, A.; AQUILANTI, L.; CLEMENTI, F. *Bacillus cereus* foodborne outbreaks in mass catering. **International Journal of Hospitality Management**, v. 72, p. 145-153, 2018.

PANJA, P. Green extraction methods of food polyphenols from vegetable materials. **Current Opinion in Food Science**. 2017.

PAZ, M.; GÚLLON, P.; BARROSO, M. F.; CARVALHO, A. P.; DOMINGUES, V. F.; GOMES, A. M.; DELERUE-MATOS, C. Brazilian fruit pulps as functional foods and additives: Evaluation of bioactive compounds. **Food Chemistry**, v. 172, p. 462-468, 2015.

PEREIRA, M. C.; OLIVEIRA, D. A.; HILL, L. E.; ZAMBIAZI, R. C.; BORGES, C. D.; VIZZOTTO, M.; GOMES, C. L. Effect of nanoencapsulation using PLGA on antioxidant and

antimicrobial activities of guabiroba fruit phenolic extract. **Food chemistry**, v. 240, p. 396-404, 2018.

PÉREZ-BURILLO, S.; GIMÉNEZ, R.; RUFIÁN-HENARES, J. A.; PASTORIZA, S. Effect of brewing time and temperature on antioxidant capacity and phenols of white tea: Relationship with sensory properties. **Food chemistry**, v. 248, p. 111-118, 2018.

PIMENTA, B. C. R.; QUINTÃO, T. D. S. C.; CHAKER, J. A.; de OLIVEIRA, P. M.; GELFUSO, G. M.; de OLIVEIRA KARNIKOWSKI, M. G.; GRIS, E. F. Improving stability of antioxidant compounds from *Plinia cauliflora* (jabuticaba) fruit peel extract by encapsulation in chitosan microparticles. **Journal of Food Engineering**. 2018.

POLAK, J.; BARTOSZEK, M.; STANIMIROVA, I. A study of the antioxidant properties of beers using electron paramagnetic resonance. **Food chemistry**, v. 141(3), p. 3042-3049, 2013.

QU, F.; BAO, C.; CHEN, S.; CUI, E.; GUO, T.; WANG, H.; MAO, Y. Genotypes and antimicrobial profiles of *Shigella sonnei* isolates from diarrheal patients circulating in Beijing between 2002 and 2007. **Diagnostic microbiology and infectious disease**, v. 74(2), p. 166-170, 2012.

REBELLO, L. P. G.; RAMOS, A. M.; PERTUZATTI, P. B.; BARCIA, M. T., CASTILLO-MUÑOZ, N.; HERMOSÍN-GUTIÉRREZ, I. Flour of banana (*Musa AAA*) peel as a source of antioxidant phenolic compounds. **Food Research International**, v. 55, p. 397-403, 2014.

RAFSANJANY, N.; SENDKER, J.; LECHTENBERG, M.; PETEREIT, F.; SCHARF, B.; HENSEL, A. Traditionally used medicinal plants against uncomplicated urinary tract infections: Are unusual, flavan-4-ol-and derhamnosylmaysin derivatives responsible for the antiadhesive activity of extracts obtained from stigmata of *Zea mays* L. against uropathogenic *E. coli* and Benzethonium chloride as frequent contaminant faking potential antibacterial activities?. **Fitoterapia**, v. 105, p. 246-253, 2015.

RAHMAN, N. A.; ROSLI, W. I. W. Nutritional compositions and antioxidative capacity of the silk obtained from immature and mature corn. **Journal of King Saud University-Science**, v. 26(2), p. 119-127, 2014.

RAHMAN, N. F. A.; SHAMSUDIN, R.; ISMAIL, A.; SHAH, N. N. A. K.; VARITH, J. Effects of drying methods on total phenolic contents and antioxidant capacity of the pomelo (*Citrus grandis* (L.) Osbeck) peels. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**. 2018.

RAI, A.; DAS, S.; CHAMALLAMUDI, M. R.; NANDAKUMAR, K.; SHETTY, R.; GILL, M.; KUMAR, N. Evaluation of the aphrodisiac potential of a chemically characterized aqueous extract of *Tamarindus Indica pulp*. **Journal of ethnopharmacology**, v. 210, p. 118-124, 2018.

RAKMAI, J.; CHEIRSILP, B.; MEJUTO, J. C.; SIMAL-GÁNDARA, J.; TORRADO-AGRASAR, A. Antioxidant and antimicrobial properties of encapsulated guava leaf oil in hydroxypropyl-beta-cyclodextrin. **Industrial Crops and Products**, v. 111, p. 219-225, 2018.

RAZALI, N.; MAT-JUNIT, S.; ABDUL-MUTHALIB, A. F.; SUBRAMANIAM, S.; ABDUL-AZIZ, A. Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. **Food Chemistry**, v. 131(2), p. 441-448, 2012.

REIS, P. M. C. L.; DARIVA, C.; VIEIRA, G. Â. B.; HENSE, H. Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. **Journal of Food Engineering**, v. 173, p. 116-123, 2016.

RENARD, C. M. Extraction of bioactives from fruit and vegetables: State of the art and perspectives. *LWT*. v. 93, p. 390-395, 2018.

ROMERO, C. D.; CHOPIN, S. F.; BUCK, G.; MARTINEZ, E.; GARCIA, M.; BIXBY, L. Antibacterial properties of common herbal remedies of the southwest. **Journal of ethnopharmacology**, v. 99(2), p. 253-257, 2005.

RUBAB, M.; SHAHBAZ, H. M.; OLAIMAT, A. N.; OH, D. H. Biosensors for rapid and sensitive detection of *Staphylococcus aureus* in food. **Biosensors and Bioelectronics**, v. 105, p. 49-57, 2018.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{•+} - Metodologia Científica. EMBRAPA, Fortaleza, CE, Brazil, 2007.

SAID, I. H.; GENCER, S.; ULLRICH, M. S.; KUHNERT, N. Tea and coffee time with bacteria—Investigation of uptake of key coffee and tea phenolics by wild type *E. coli*. **Food Research International**, v. 108, p. 584-594, 2018.

SAIKAEW, K.; LERTRAT, K.; MEENUNE, M.; TANGWONGCHAI, R. Effect of high-pressure processing on colour, phytochemical contents and antioxidant activities of purple waxy corn (*Zea mays* L. var. ceratina) kernels. **Food Chemistry**, v. 243, p. 328-337, 2018.

SAREPOUA, E.; TANGWONGCHAI, R.; SURIHARN, B.; LERTRAT, K. Influence of variety and harvest maturity on phytochemical content in corn silk. **Food chemistry**, v. 169, p. 424-429, 2015.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: a critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 111-125, 2015.

SCHERER, R.; GODOY, H. T. Antioxidant activity index (AAI) by the 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl method. **Food chemistry**, v. 112(3), p. 654-658, 2009.

SIDDHURAJU, P. Antioxidant activity of polyphenolic compounds extracted from defatted raw and dry heated *Tamarindus indica* seed coat. **LWT-Food Science and Technology**, v. 40(6), p. 982-990, 2007.

SILVA, M. C.; de SOUZA, V. B.; THOMAZINI, M.; de SILVA, E. R.; SMANIOTTO, T.; de CARVALHO, R. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Use of the jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*) depulping residue to produce a natural pigment powder with functional properties. **LWT-Food Science and Technology**, v. 55(1), p. 203-209, 2014.

SILVA, K. D. R. R.; SIRASA, M. S. F. Antioxidant properties of selected fruit cultivars grown in Sri Lanka. **Food chemistry**, v. 238, p. 203-208, 2016.

SOBRAL, M. M. C.; NUNES, C.; MAIA, A.; FERREIRA, P.; COIMBRA, M. A. Conditions for producing long shelf life fruit salads processed using mild pasteurization. **LWT-Food Science and Technology**, v. 85, p. 316-323, 2017.

SOONG, Y. Y.; BARLOW, P. J. Antioxidant activity and phenolic content of selected fruit seeds. **Food chemistry**, v. 88(3), p. 411-417, 2004.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; SEVERI, J. A.; SANTOS, E.; SILVA, V. Y.; VILEGAS, W.; SALGADO, H. R.; PIETRO, R. C. Chemical and antidiarrheal studies of *Plinia cauliflora*. **Journal of medicinal food**, v. 14(12), p. 1590-1596, 2011.

SOUZA-MOREIRA, T. M.; MOREIRA, R. R.; SACRAMENTO, L. V.; PIETRO, R. C. Histochemical, phytochemical and biological screening of *Plinia cauliflora* (DC.) Kausel, *Myrtaceae*, leaves. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 20(1), p. 48-53, 2010.

SRIKANTH, M.; SWAMY, T. R.; RAO, T. M.; RAO, B. G. Abortifacient and antioxidant activities of different extracts of *Musa rosacea*. **Asian Pacific Journal of Reproduction**, v. 2(3), p. 174-177, 2013.

STEINER, A. D.; VARGAS, A.; FRONZA, N.; BRANDELLI, A.; DOS SANTOS, J. H. Z. Antimicrobial activity of some natural extracts encapsulated within silica matrices. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 160, p. 177-183, 2017.

SUSANTO, D. F.; APARAMARTA, H. W.; WIDJAJA, A.; GUNAWAN, S. Identification of phytochemical compounds in *Calophyllum inophyllum* leaves. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 7(9), p. 773-781, 2017.

SYNOWIEC, A.; GNIEWOSZ, M.; KRAŚNIEWSKA, K.; PRZYBYŁ, J. L.; BĄCZEK, K.; WĘGLARZ, Z. Antimicrobial and antioxidant properties of pullulan film containing sweet basil extract and an evaluation of coating effectiveness in the prolongation of the shelf life of apples stored in refrigeration conditions. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v, 23, p. 171-181, 2014.

SYTAR, O.; HEMMERICH, I.; ZIVCAK, M.; RAUH, C.; BRESTIC, M. Comparative analysis of bioactive phenolic compounds composition from 26 medicinal plants. **Saudi Journal of Biological Sciences**. 2016.

TIAN, Y.; PUGANEN, A.; ALAKOMI, H. L.; UUSITUPA, A.; SAARELA, M.; YANG, B. Antioxidative and antibacterial activities of aqueous ethanol extracts of berries, leaves, and branches of berry plants. **Food Research International**. v. 106, p. 291-303, 2017.

TRIL, U.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; ÁLVAREZ, J. Á. P.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, physicochemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of rich-fibre powder extract obtained from tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 155-162, 2014.

ULBIN-FIGLEWICZ, N.; ZIMOCH, A.; JARMOLUK, A. Plant extracts as components of edible antimicrobial protective coatings. **Czech Journal of Food Sciences**, v. 31(6), p. 596-600, 2013.

VEGGI, P. C.; PRADO, J. M.; BATAGLION, G. A.; EBERLIN, M. N.; MEIRELES, M. A. A. Obtaining phenolic compounds from jatoba (*Hymenaea courbaril* L.) bark by supercritical fluid extraction. **The Journal of supercritical fluids**, v. 89, p. 68-77, 2014.

VIEITEZ, I.; MACEIRAS, L.; JACHMANIÁN, I.; ALBORÉS, S. Antioxidant and antibacterial activity of different extracts from herbs obtained by maceration or supercritical technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 133, p. 58-64, 2018.

del VILLALOBOS, M. C.; SERRADILLA, M. J.; MARTÍN, A.; HERNÁNDEZ-LEÓN, A.; RUÍZ-MOYANO, S.; de GUÍA CÓRDOBA, M. Characterization of microbial population of breba and main crops (*Ficus carica*) during cold storage: Influence of passive modified atmospheres (MAP) and antimicrobial extract application. **Food microbiology**, v. 63, p. 35-46, 2017.

WEI, S.; CHELLIAH, R.; PARK, B. J.; PARK, J. H.; FORGHANI, F.; PARK, Y. S.; OH, D. H. Molecular discrimination of *Bacillus cereus* group species in foods (lettuce, spinach, and kimba) using quantitative real-time PCR targeting *groEL* and *gyrB*. **Microbial pathogenesis**. v. 115, p. 312-320, 2018.

XU, J.; CHEN, S.; HU, Q. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum* L.). **Food chemistry**, v. 91(1), p. 79-83, 2005.

YOON, J. H.; WEI, S.; OH, D. H. A highly selective enrichment broth combined with real-time PCR for detection of *Staphylococcus aureus* in food samples. **LWT- Food Science and Technology**, v. 94, p. 103-110, 2018.

ZAMANI, M.; DELFANI, A. M.; JABBARI, M. Scavenging performance and antioxidant activity of γ -alumina nanoparticles towards DPPH free radical: Spectroscopic and DFT-D studies. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 201, p. 288-299, 2018.

ZHANG, C.; SUEN, C. L. C.; YANG, C.; QUEK, S. Y. Antioxidant capacity and major polyphenol composition of teas as affected by geographical location, plantation elevation and leaf grade. **Food Chemistry**, v. 244, p. 109-119, 2018a.

ZHANG, Y.; SHI, X.; HAO, S.; LU, Q.; ZHANG, L.; HAN, X.; LU, W. Inhibition of *Shigella sonnei*-induced epithelial barrier disruption by surface-layer associated proteins of

lactobacilli from Chinese fermented food. **Journal of dairy science**. v. 101, p. 1834-1842, 2018b.

ŽILIĆ, S.; JANKOVIĆ, M.; BASIĆ, Z.; VANČETOVIĆ, J.; MAKSIMOVIĆ, V. Antioxidant activity, phenolic profile, chlorophyll and mineral matter content of corn silk (*Zea mays* L): Comparison with medicinal herbs. **Journal of Cereal Science**, v. 69, p. 363-370, 2016.

ZIYATDINOVA, G.; SNEGUREVA, Y.; BUDNIKOV, H. Novel approach for the voltammetric evaluation of antioxidant activity using DPPH-modified electrode. **Electrochimica Acta**, v. 247, p. 97-106, 2017.

ZVICEVIČIUS, E.; RAILA, A.; ČIPLIENĖ, A.; ČERNIAUSKIENĖ, Ž.; KADŽIULIENĖ, Ž.; TILVIKIENĖ, V. Effects of moisture and pressure on densification process of raw material from *Artemisia dubia* Wall. **Renewable Energy**, v. 119, p. 185-192, 2018.

❖ CAPÍTULO 2

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL NAS PROPRIEDADES DE FILME BIODERADÁVEL A BASE DE AMIDO DE MANDIOCA

RESUMO

A possibilidade de substituição de embalagens plásticas por embalagens biodegradáveis atente a uma nova demanda de mercado, e pode ser alternativa para redução de impactos ambientais e agregação de valor em produtos alimentícios. O presente estudo foca no desenvolvimento de filme biodegradável a base de amido de mandioca, sem e com adição de 3,1% de extrato de polpa de tamarindo, e a avaliação do efeito desse aditivo na microestrutura, propriedades mecânicas, conteúdo de umidade, espessura, solubilidade em água e potencial antioxidante do filme. A espessura (~ 0,73 mm), o conteúdo de umidade (~ 13,07%) e a solubilidade em água (~ 30,61%), não foram afetados significativamente ($p < 0,05$) pela adição do extrato no filme. A presença do extrato melhorou ($p < 0,05$) a capacidade de alongação do filme, com alongação de ruptura igual a 104,76%, enquanto no filme sem extrato foi 77,46%. Entretanto, houve uma redução da resistência a tração, 2,09 MPa, filme com extrato, 6,87 MPa, no filme sem extrato, e do módulo de Young, 2,46 MPa, filme com extrato, e 6,21 MPa, filme sem extrato, justificado visualização nas imagens da microscopia eletrônica de varredura de uma estrutura mais heterogênea da rede polimérica do filme com extrato. A capacidade antioxidante do filme aumentou ($p < 0,05$) com a adição do extrato em todos os métodos analisados. Indicando que o filme adicionado de extrato de polpa de tamarindo apresenta potencial para ser uma embalagem ativa, contribuir para um maior aproveitamento do tamarindo, para reduzir resíduos plásticos, e também prolongar a vida de prateleira de alimentos.

Palavras-chave: filme biodegradável, amido de mandioca, aditivo natural.

ABSTRACT

The possibility of biodegradable packaging replacement to a new market demand, and can be alternative to the reduction of environmental impacts and the aggregation of value in food products. The present study focuses on the development of biodegradable cassava starch film, without and with the addition of 3.1% of tamarind pulp extract, and the evaluation of the

effect of this additive on the microstructure, mechanical properties, content of moisture, thickness, water solubility and antioxidant potential of the film. Thickness (~ 0.73 mm), moisture content (~ 13.07%) and water solubility (~ 30.61%) were not significantly affected ($p < 0.05$) by addition of the extract in the film. The presence of the extract improved ($p < 0.05$) the elongation capacity of the film, with elongation of rupture equal to 104.76%, while in the film without extract was 77.46%. However, there was a reduction of tensile strength, 2.09 MPa, film with extract, 6.87 MPa, in the film without extract, and Young's modulus, 2.46 MPa, film with extract, and 6.21 MPa, film without extract, justified the visualization in the images of the scanning electron microscopy of a more heterogeneous structure of the polymer network of the film with extract. The antioxidant capacity of the film increased ($p < 0.05$) with the addition of the extract in all the analyzed methods. Indicating that the added film of tamarind pulp extract has the potential to be an active packaging, contribute to a greater utilization of tamarind, to reduce plastic waste, and also to prolong the shelf life of food.

Keywords: biodegradable film, cassava starch, natural additive.

1 INTRODUÇÃO

Embalagens são utilizadas há diversos anos pela indústria de alimentos, e atualmente a sua função não é apenas armazenar e transportar um produto, mas desempenham importantes papéis na conservação e aumento da vida de prateleira, carregam informações ao consumidor, é uma forma de atrair consumidores e um diferencial aos produtos (ASSIS et al., 2017; CARISSIMI et al., 2018). Mas atualmente, a maioria das embalagens são derivadas de materiais de fontes não renováveis, como o petróleo, que demoram muitos anos para serem degradadas, e grande parte não são reaproveitadas, ficando acumulada e gerando problemas ambientais (MARCOS et al., 2014). Entretanto, há uma mudança no comportamento dos consumidores, que preocupam cada vez mais com problemas ambientais e sustentabilidade, impulsionando as indústrias de alimentos a buscarem alternativas para atender a essa nova demanda de mercado (LI et al., 2018). A utilização de embalagens biodegradáveis é uma opção, pois elas podem ser amigáveis ao meio ambiente, biodegradáveis, apresentarem boas propriedades de barreira, serem oriundas de fontes renováveis, e de baixo custo (ASSIS et al., 2017; EBRAHIMI et al., 2016; FERREIRA et al., 2016).

Os filmes biodegradáveis são exemplo de embalagem biodegradável que pode minimizar os efeitos ou substituir o uso de polímeros sintéticos, como plásticos (DEHGHANI et al., 2018). Esses filmes são constituídos por biopolímeros, obtidos de fontes renováveis que apresentam capacidade de formar filmes, como polissacarídeos, lipídeos e proteínas. A escolha do material utilizado na formulação do filme irá influenciar diretamente nas propriedades finais e consequentemente, na aplicação do filme biodegradável, podendo ser utilizadas combinação de biopolímeros para melhorar as características (ASSIS et al., 2017; EBRAHIMI et al., 2016; FERREIRA et al., 2016).

O amido é um dos biopolímeros promissores para a produção dos filmes biodegradáveis, por ser um material de baixo custo, obtido de fontes renováveis, biodegradável, abundante e comestível (CARISSIMI et al., 2018; PELISSARI et al., 2013; SANYANG et al., 2016). É constituído de dois polissacarídeos, amilose que apresenta uma estrutura mais linear, e amilopectina que apresenta uma estrutura ramificada. O conteúdo de amilose e amilopectina varia de acordo com a espécie e grau de maturação da planta e influenciam diretamente nas características dos filmes que serão formados, amido com alto teor de amilose contribui para um filme de maior resistência mecânica, enquanto amido com alto teor de amilopectina contribui para um filme com baixas propriedades mecânicas (WOGGUM et al., 2015). Há diversas fontes de amido que podem ser utilizadas na elaboração de filmes degradáveis, como mandioca, milho, trigo, batata, inhame, e outras (DURANGO et al., 2011).

Além dos constituintes básicos, os filmes biodegradáveis podem ser adicionados de substâncias que podem contribuir com a coloração, sabor, aroma, apresentar atividade antioxidante e antimicrobiana, e conter nutrientes tais como vitaminas e minerais que complementam atributos funcionais (MARCOS et al., 2014; SANYANG et al., 2016; WOGGUM et al., 2015). Esse é outro fato que atrai a indústria de alimentos, pois a incorporação de conservantes e antioxidantes na matriz polimérica reduz ou remove a aplicação direta de aditivos nos alimentos, que muitas vezes já são produzidos com uma concentração elevada de aditivos para manter sua qualidade durante toda a vida de prateleira (LOPES et al., 2014; PERAZZO et al., 2014).

Esses aditivos podem ser sintéticos ou de fontes naturais, e devido o interesse de reduzir o uso de aditivos sintéticos, que apesar de serem eficientes, podem ter efeitos negativos a saúde dos consumidores e ser de custos mais elevados, a indústria tem a possibilidade de utilizar aditivos derivados de fontes naturais, como extratos e óleos

essenciais (COMERT e GOKMEN, 2018). Compostos fenólicos, ácidos orgânicos, carotenoides, terpenos, entre outros, são os principais compostos responsáveis pela capacidade antioxidante e antimicrobiana de aditivos naturais (HASHEMI e KHANEGHAH, 2017; SHIN et al., 2017).

Tamarindo (*Tamarindus indica* L.) pertence a família das *Leguminosae*, é uma planta originária da África tropical, e no Brasil é cultivada em vários estados, principalmente na região Nordeste. O fruto do tamarindo possui uma polpa de sabor azedo contendo várias sementes e uma casca lenhosa e quebradiça (NORAPHAIPHAKSA et al., 2016; PAZ et al., 2015). A polpa de tamarindo é utilizada na produção de polpas de suco, sorvetes, geleias, acidulante na preparação de alimentos e como planta medicinal na cultura popular (BINOJ et al., 2017; PAZ et al., 2015). Além disso, a polpa de tamarindo contém vários compostos com potencial antioxidante e antimicrobiano, como compostos fenólicos, como a catequina, procianidina e taninos e ácidos orgânicos, como o ácido tartárico (MARTINELLO et al., 2017; RAZALI et al., 2012; REIS et al., 2016; SAMAL e DANGI, 2014; TRIL et al., 2014; UCHENNA et al., 2017). O que a torna opção para a produção de extratos que podem ser utilizados como aditivo na indústria de alimentos.

Com isso, este estudo objetivou desenvolver um filme biodegradável a base de amido de mandioca adicionado de extrato de polpa de tamarindo (*Tamarindus indica* L.). E avaliar o efeito desse aditivo na microestrutura, propriedades mecânicas, conteúdo de umidade, espessura, solubilidade em água e potencial antioxidante do filme.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Materiais e produtos químicos

Amido de mandioca, Amafil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda. – Cianorte (Brasil). ABTS (2,2'-azino-bis(3-ethylbenzothiazolin-6-sulfonate), DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), TPTZ (2,4,6-tripiridil-8-triazina), Trolox (6-hydroxy-2,5,7,8-tetramethylchromane-2-carboxylic acid) foram comprados de Sigma-Aldrich Brasil Ltda - São Paulo (Brasil). Ácido gálico foi adquirido da Petroquímicos Comércio e Indústria Ltda. – Diadema (Brasil). Persulfato de potássio comprado de Acros Organics – New Jersey (USA). Ácido clorídrico e etanol absoluto, foram de grau analítico e comprado de LabSynth-Produtos para Laboratórios Ltda. - Diadema (Brasil). Acetato de sódio, cloreto férrico e metanol, de

grau analítico, foram adquiridos de Vetec Química Fina Ltda - Duque de Caxias (Brasil). Ácido acético, grau analítico, comprado de Cromoline Química Fina Ltda. Diadema (Brasil). Carbonato de sódio, grau analítico, Dinâmica Química Contemporanea Ltda. Diadema (Brasil). Glicerol, grau analítico, Isofar Indústria e Comércio de Produtos Químicos – Duque de Caxias (Brasil).

2.2 Obtenção do extrato de polpa de tamarindo

O extrato foi obtidos segundo Chen et al. (2016), com adaptações, o método utilizado foi maceração em manta aquecedora, dez gramas da polpa previamente seca e triturada foi embebido em 50 mL de metanol 80% (v/v) e aquecido em manta de aquecimento (Even) durante duas horas a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após filtração (Whatman N^o. 2) os extratos foram concentrados em banho-maria a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, em chapa de aquecimento (Tecnal – TE-0181), até que os extratos congelassem a uma temperatura $-6,0\text{ }^{\circ}\text{C}$. O extrato obtido foi acondicionado em embalagens ao abrigo da luz e armazenado em refrigerador (Consul-280) a $-6,0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.3 Produção dos filmes biodegradáveis

Foram desenvolvidas duas formulações de filme biodegradável, uma adicionada de extrato de polpa de tamarindo e outra formulação controle, sem adição de extrato. Eles foram preparados de acordo com Pelissari et al. (2013) com adaptações. As soluções formadoras de filme (SFF) foram preparadas com uma concentração de 2% (p/p) de amido de mandioca. As soluções foram homogeneizadas em agitador magnético (Tecnal, modelo TE-0851, Brasil) por 30 minutos, seguida de aquecimento a temperatura do processo ($85\text{ }^{\circ}\text{C}$) sob agitação suave, para evitar a formação de bolhas. Quando a SFF atingiu $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ o glicerol (19 g de glicerol/100g de amido) foi adicionado como plastificante, previamente dissolvido em água destilada, e a temperatura do processo foi mantida por 15 minutos. Após, a SFF acrescida de extrato de polpa de tamarindo foi resfriada a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ para adição do extrato, a concentração foi 3,1% (g/100g de amido) baseado em testes microbiológicos preliminares da concentração inibitória mínima. As SFF foram resfriadas a temperatura ambiente e vertidas em suportes de teflon de 20 cm e 13 cm de diâmetros, e secos a $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ em estufa (Tecnal – TE 394 2MP). Os filmes foram acondicionados em dessecadores contendo brometo de sódio, com

58% UR, 25°C, por 48 horas antes de serem caracterizados quanto ao conteúdo de umidade e propriedades mecânicas, e acondicionados em dessecadores contendo sílica gel para total remoção da água para análises de solubilidade em água e microscopia eletrônica de varredura.

2.4 Caracterização dos filmes biodegradáveis

2.4.1 Espessura

Espessuras dos filmes foram obtidas utilizando um micrômetro (Digital Micrometer Series 293 MDC-Lite) com uma precisão de 0,0001 mm. Os valores da espessura de cada filme foram determinados pela média de 10 medições aleatórias.

2.4.2 Conteúdo de umidade

O teor de umidade foi determinado por análise gravimétrica, de acordo com o método padronizado D644-99 (ASTM,1999). As amostras foram secas em estufa (Tecnal – TE 394 2MP) a 105 °C por 24 horas.

2.4.3 Solubilidade em água

A solubilidade (S) foi determinada pela metodologia descrita por Gotard et al. (1992). A princípio três discos (diâmetro = 20 mm) de cada filme foram armazenados em dessecador contendo sílica gel (~ 0% UR) por 48 horas. As amostras foram pesadas em balança analítica (Shimadzu – AUY 220) para obtenção do peso seco inicial (P_i), e imersa em 50 mL de água a 25 °C por 24 horas, sob agitação esporádica. Após, a solução contendo os discos dos filmes foi filtrada, a matéria insolúvel foi seca a 105 °C por 24 horas, e em seguida pesada, obtendo o peso seco final (P_f). As análises foram realizadas em quadruplicata, e a porcentagem de solubilidade em água (%S) foi calculada de acordo com a Equação 1:

$$\%S = \frac{(P_i - P_f)}{P_i} \times 100 \quad (Eq. 1)$$

Onde P_i é o peso seco inicial da amostra (g), e P_f é o peso seco final da amostra (g).

2.4.4 *Propriedades mecânicas*

A resistência a tração (MPa), o percentual de alongação na ruptura (%) e o Módulo de Young (MPa) foram medidos usando um analisador de textura (Stable Micro Systems modelo TA.XT plus). Os parâmetros utilizados no teste foram escolhidos de acordo com a norma ASTM D882-12 (2012). Foram realizadas cinco repetições para cada amostra.

2.4.5 *Microscopia eletrônica de varredura (MEV)*

Micrografias de superfície e das secções transversais dos filmes foram obtidas utilizando um microscópio eletrônico de varredura (TESCAN, modelo VEJA-LMH, Brno – República Checa). Imagens em diferentes ampliações (de 200x até 1220x) foram obtidas usando uma voltagem de cerca de 30 kV e um comprimento de onda de ~ 13,7 nm.

2.5 *Capacidade antioxidante “in vitro”*

O preparo dos extratos dos filmes foi realizado de acordo com Rodsamran e Sothornvit (2018) com adaptações. Para preparar as soluções dos extratos, 200 mg das amostras foi dispersa em 20 mL de cada solvente: metanol 80% no método DPPH, etanol no método ABTS e água MilliQ no método FRAP. Em seguida, foram homogeneizadas em vórtex (Biomixer – QL-901) por 30 segundos, e centrifugada (Centrifio – MOD. 80-2B) a 12000xg por 10 minutos. O sobrenadante foi coletado e utilizado para determinação da capacidade antioxidante pelos métodos eliminação do radical DPPH, eliminação de radical ABTS e redução férrica (FRAP).

2.5.1 *Capacidade de eliminação de radicais DPPH*

A análise da capacidade de eliminação de radicais livres dos filmes biodegradáveis contra o radical 2,2-difenil-1-picrilhidrazil foi realizada utilizando o método descrito por Xu et al. (2005). Foi preparada uma solução de 0,1mM de DPPH. Os extratos

metanólicos dos filmes e o padrão ácido gálico foram diluídos em metanol 80% (v/v) obtendo as concentrações que variaram de 10 mg mL⁻¹ a 0,625 mg mL⁻¹, para os filmes, e 0,044 mg mL⁻¹ a 0,0007 mg mL⁻¹, para o padrão ácido gálico. Após, 0,1 mL de cada diluição dos filmes e do padrão ácido gálico foram adicionados a 3,9 mL da solução 0,1mM de DPPH e homogeneizadas em vórtex (Biomixer – QL-901) As soluções foram armazenadas em temperatura ambiente, ao abrigo da luz por 90 minutos e em seguida as absorbâncias a 517 nm utilizando um espectrofotômetro (Shimadzu – Uvmini-1240) foram registradas. Como branco, utilizou uma solução de 0,1 mL de metanol 80% (v/v) e 3,9 mL de 0,1mM de DPPH. As análises foram realizadas em triplicata. A porcentagem de inibição foi calculada pela Equação 2:

$$\% \text{ Inibição} = \left[\frac{(Abs_0 - Abs_1)}{Abs_0} \right] \times 100 \quad (\text{Eq. 2})$$

Onde, Abs₀ é a absorbância do branco e Abs₁ é a absorbância da amostra. Foi determinado o EC₅₀ para cada amostra, as concentrações mínimas dos filmes necessárias para reduzir 50% da concentração inicial do radical DPPH, a partir da curva da concentração dos filmes em mg mL⁻¹ vs. % Inibição correspondente. Os resultados são expressos em base seca.

2.5.2 Capacidade de eliminação de radicais ABTS

A capacidade dos filmes biodegradáveis para eliminar o radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) foram determinadas segundo Rufino et al. (2007). Preparou-se uma solução estoque de ABTS 7mM e uma solução de persulfato de potássio 140 mM. O radical ABTS^{•+} foi preparado a partir da reação de 5,0 mL da solução estoque de ABTS com 88 µL da solução de persulfato de potássio e mantida a temperatura ambiente ao abrigo da luz, por 16 horas, para a completa reação e estabilização da absorbância. Após, o radical ABTS^{•+} foi diluído em álcool etílico até obter uma absorbância de 0,700 nm ± 0,050 nm a 734 nm utilizando um espectrofotômetro (Shimadzu – Uvmini-1240). Os extratos etanólicos dos filmes e o padrão Trolox 2 mM foram diluídos em álcool etílico para obtenção de concentrações que variaram de 10 mg mL⁻¹ a 0,625 mg mL⁻¹, para os filmes, e 0,2 mg mL⁻¹ a 0,0015 mg mL⁻¹, para o padrão Trolox. Após, 30 µL de cada diluição dos filmes e da solução padrão de Trolox foram adicionados a 3,0 mL do radical ABTS^{•+} e

homogeneizadas em vórtex (Biomixer – QL-901). Aguardou 6 minutos e as absorbâncias foram medidas a 734 nm em espectrofotômetro (Shimadzu – Uvmini-1240). Álcool etílico foi utilizado como branco. As análises foram realizadas em triplicata. A atividade antioxidante total (AAT) de cada amostra foi definida a partir da curva da concentração dos filmes em mg mL^{-1} vs. absorbância, onde substituiu-se a absorbância equivalente a metade da concentração inicial do padrão Trolox, e encontrou a concentração equivalente do filme. Os resultados foram expressos em μM de Trolox g^{-1} de filme.

2.5.3 Capacidade de redução férrica (FRAP)

A capacidade de redução do ferro dos filmes biodegradáveis foi determinada segundo Benzie e Strain (1996) com algumas modificações. O reagente FRAP foi preparado utilizando uma solução tampão acetato 300 mmol L^{-1} (pH final de 3,6), o reagente TPTZ (2,4,6-tripiridil-8-triazina) 10 mmol L^{-1} em solução de HCl 40 mmol L^{-1} e solução de FeCl_3 20 mmol L^{-1} . Essas soluções foram misturadas na proporção (10:1:1) para obtenção do reagente FRAP. Os extratos dos filmes biodegradáveis foram preparados utilizando água Milli-Q. Os extratos dos filmes e o padrão ácido gálico foram diluídos em água Milli-Q para obtenção de concentrações que variaram de 10 mg mL^{-1} a $0,625 \text{ mg mL}^{-1}$, para os filmes, e $0,044 \text{ mg mL}^{-1}$ a $0,0007 \text{ mg mL}^{-1}$, para o padrão ácido gálico. Após, $0,04 \text{ mL}$ de cada diluição foram adicionados a $1,2 \text{ mL}$ da solução FRAP e $0,12 \text{ mL}$ de água Milli-Q e levados a banho-maria (DeLeo – DL-BMME) a 37°C por 15 minutos, em seguida, permaneceram por 4 minutos em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, para estabilização. As absorbâncias foram medidas a 593 nm em espectrofotômetro (Shimadzu – Uvmini-1240). Água Milli-Q foi utilizada como branco. As análises foram realizadas em triplicata. Os resultados foram expressos em mg de ácido gálico g^{-1} de filme.

2.6 Análises estatísticas

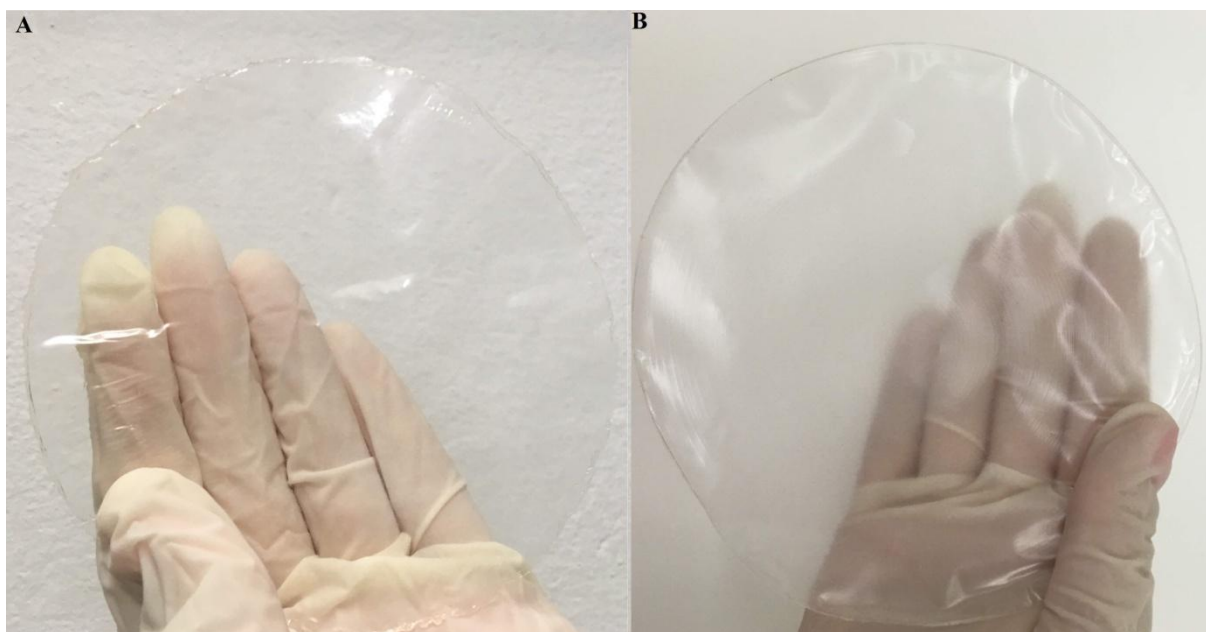
Os dados para comparação dos filmes foram analisados por Teste t, a um nível de significância de 5% ($p < 0,05$). Utilizou-se o software Statistica 7.1 Statsoft, Inc. Os resultados apresentados correspondem à média \pm desvio padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Caracterização dos filmes biodegradáveis

Os filmes a base de amido sem e com adição de 3,1 % de extrato de polpa de tamarindo, utilizando glicerol como plastificante foram facilmente removidos dos suportes de teflon, sem apresentar bolhas na superfície e sem rachaduras. Em relação à aparência, Figura 1, ambos os filmes se apresentaram transparentes, mas o filme com adição de extrato apresentou uma sutil coloração amarelada, derivada da cor do extrato. Além disso, a adição do extrato de polpa de tamarindo proporcionou mais transparência e brilho ao filme.

Figura 1 - Filmes biodegradáveis a base de amido de mandioca (A) com adição de 3,1% de extrato de polpa de tamarindo e (B) sem adição de extrato.



Os resultados da caracterização: espessura, conteúdo de umidade e solubilidade em água, dos filmes a base de amido de mandioca com e sem adição de extrato de polpa de tamarindo são apresentados na Tabela 1.

3.1.1 Espessura

A espessura é um importante parâmetro para avaliar a homogeneidade dos filmes formados, e influencia na avaliação de diversas propriedades como cor e opacidade, propriedades mecânicas, permeabilidade a vapor de água (GALDEANO et al., 2013; JANSSON e THUVANDER, 2004). Os resultados da determinação da espessura dos filmes são apresentados na Tabela 1. A adição de 3,1% de extrato de polpa de tamarindo não alterou significativamente ($p < 0,05$) a espessura do filme que foi igual a 0,073 mm, enquanto que para o filme contendo apenas amido e glicerol a espessura foi igual a 0,072 mm. A espessura dos filmes produzidos neste estudo é inferior as do filme a base de 5% de amido de mandioca adicionado de extrato de alecrim, 0,2 mm (PINEROS-HERNANDEZ et al., 2017), e do filme a base de 5% de amido de mandioca adicionado de extrato de erva mate, 0,25 mm (JARAMILLO et al., 2016). Mas os valores são próximos aos do estudo realizado por Luchese e colaboradores (2017), de filmes a base de 2% de amido de mandioca, em que a espessura foi igual a 0,08 mm. Isso indica que a espessura dos filmes esta associada à quantidade de sólidos presentes na solução formadora do filme, ou seja, quanto maior a quantidade de amido, plastificante ou dos demais constituintes na solução formadora de filme, maior espessura resultante.

Tabela 1 - Propriedades do filme a base de amido de mandioca sem e com adição de 3,1% de extrato de polpa de tamarindo.

Filmes	Espessura (mm)	Conteúdo de umidade (%)	Solubilidade em água (%)
Extrato	$0,073 \pm 0,01^a$	$13,11 \pm 0,68^a$	$32,38 \pm 8,90^a$
Amido	$0,072 \pm 0,00^a$	$13,03 \pm 0,06^a$	$28,83 \pm 4,87^a$

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

3.1.2 Conteúdo de umidade

Conteúdo de umidade dos filmes está associado à afinidade pela água dos compostos presentes na solução formadora do filme, ou seja, a presença de substâncias hidrofílicas tende a formar um filme com maior teor de umidade. O conteúdo de umidade

também influencia na permeabilidade ao vapor de água, o aumento da umidade pode ocasionar o aumento à permeabilidade ao vapor d'água (ASSIS et al., 2017).

Nos filmes produzidos o conteúdo de umidade foi aproximadamente 13,0% e não foi afetado pela adição do extrato de polpa de tamarindo, Tabela 1. O teor de umidade dos filmes deste estudo é consideravelmente inferior aos dos filmes produzidos por Medina-Jaramillo e colaboradores (2017), com formulações contendo 5% de amido de mandioca, 1,5% de glicerol e 5% de extratos naturais de chá verde e manjerição, que foi de 25,3% para o extrato de chá verde e 28,6% para o extrato de manjerição. Isso pode ser justificado pela maior disponibilidade de grupos hidroxilas e grupos amino para interagir com a água, já que há uma maior concentração de amido de mandioca presente nessas soluções (ZHAO et al., 2018). Já no estudo de Reis e colaboradores (2015) os teores de umidade dos filmes a base de amido de mandioca, adicionados de extrato de erva mate e polpa de manga, foram próximos ao do presente estudo, 11,49-14,86 %. Assim como observaram Caetano e colaboradores (2018), no filme a base de amido de mandioca com adição de 3% de extrato de resíduo de abóbora e 1% de óleo essencial de orégano, onde o conteúdo de umidade foi igual a 12,67%.

3.1.3 Solubilidade em água

A solubilidade em água é um fator importante para determinar a aplicação do filme em alimentos, já que filmes comestíveis, e aplicados em alimentos frescos e congelados requer uma alta solubilidade, para evitar a exsudação, enquanto filmes com baixa solubilidade em água são necessários para alimentos com alta atividade de água e alimentos em que se deseja manter a integridade durante o preparo com contato direto com a água (CAETANO et al., 2018; KIM et al., 2015; MATTA JR et al., 2011).

Apesar do filme adicionado de extrato de polpa de tamarindo apresentar um maior valor de solubilidade em água (32,38%) que o filme sem adição de extrato (28,83%), essa diferença não foi significativa ($p < 0,05$), assim como para o conteúdo de umidade. Valores próximos aos obtidos por Medina-Jaramillo e colaboradores (2017), em filmes a base de amido de mandioca, adicionado de extratos de chá verde (28,0%) e extrato de manjericao (30,0%). Já Luchese e colaboradores (2017) comparando filmes à base de amido de mandioca e amido de milho, observaram que o tipo de amido e a proporção, influenciavam na solubilidade em água dos filmes formados, os resultados mostraram que para o filme a base de 2% de amido de mandioca a solubilidade foi 24,0%, enquanto que para o filme com 2% de

amido de milho a solubilidade foi 16,5%. Caetano e colaboradores (2018) avaliando diferentes formulações de filmes a base de amido de mandioca com adição de óleo essencial de orégano e extrato de resíduo de abóbora, e glicerol como plastificante, observaram que a mudança na concentração dos constituintes interferia na solubilidade do filme formado, que variou de 17,9% a 60,5%.

A solubilidade dos filmes em água depende principalmente da quantidade de compostos de reticulação presentes na solução formadora de filme, pois isso interfere diretamente na força de interação das moléculas para formação da rede polimérica. Como por exemplo, a proporção e a fonte de amido utilizado podem influenciar na formação da rede polimérica, interferindo na dissociação do polímero em água e consequentemente na solubilidade do filme formado (LUCHESE et al., 2017; ZHAO et al., 2018). A proporção e características dos demais constituintes também podem afetar a solubilidade em água, por exemplo, maior concentração de glicerol pode aumentar a solubilidade devido ao seu caráter hidrofílico (MATTA JR et al., 2011).

3.1.4 Propriedades mecânicas

Os resultados das análises de propriedades mecânicas dos filmes: resistência à tração, alongação na ruptura e módulo de Young, são apresentados na Tabela 2. Pode-se observar que a adição do extrato de polpa de tamarindo afetou significativamente ($p < 0,05$) todos os parâmetros avaliados na análise de propriedades mecânicas.

Tabela 2 - Propriedades mecânicas dos filmes a base de amido de mandioca, sem e com adição de 3,1% do extrato de polpa de tamarindo.

Filmes	Resistência à tração (MPa)	Elongação na ruptura (%)	Módulo de Young (MPa)
Extrato	$2,09 \pm 0,02^b$	$104,76 \pm 10,52^a$	$2,46 \pm 0,45^b$
Amido	$6,867 \pm 1,56^a$	$77,464 \pm 0,56^b$	$6,206 \pm 1,30^a$

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

A adição de extrato de polpa de tamarindo reduziu a resistência a tração do filme, 2,09 MPa filme com extrato, 6,87 MPa filme sem extrato. Em relação à alongação na

ruptura, o filme a base de amido de mandioca adicionado de extrato de polpa tamarindo apresentou maior flexibilidade que o filme sem adição de extrato, 104,76% e 77,46%, respectivamente. Já para o módulo de Young, ou módulo de elasticidade, o filme sem extrato apresentou um maior valor, 6,206 MPa, que o filme adicionado de extrato de polpa de tamarindo, 2,46 MPa, este parâmetro indica proporcionalmente a rigidez do filme. Ou seja, o filme com a adição do extrato é menos rígido que o filme sem extrato.

Estudos relatam que a adição de extratos pode reduzir a resistência a tração dos filmes biodegradáveis, Reis e colaboradores (2015) relataram que a adição de extrato de erva mate na formulação de filmes a base de amido de mandioca reduziu significativamente a resistência a tração, que variou de 5,38 MPa no filme sem adição de extrato, até 2,67 MPa nos filmes com 15,0% de extrato na formulação, e ao contrário deste estudo, a incorporação de aditivos também reduziu a elongação na ruptura dos filmes, que foi 70,28% no filme sem extrato, e 55,15% no filme com 15,0% de extrato. Adição de extrato de resíduos de abóbora em filmes a base de amido de mandioca também reduziu significativamente a resistência à tração, 1,02 MPa filme com extrato e 1,74 MPa filme sem extrato, e o módulo de Young, 540 MPa com extrato e 883 MPa sem extrato, e aumentou a elongação de ruptura, 258 % com extrato e 136% sem extrato (CAETANO et al., 2018).

Extrato de licopeno também reduziu significativamente a resistência à tração, entretanto também reduziu a elongação de ruptura nos filmes a base de amido de mandioca, resultando em uma resistência igual a 3,09 MPa e elongação igual a 134,59% para os filmes sem adição de extrato, a aproximadamente 2,5 MPa e 65,53% para os filmes com adição de extrato (ASSIS et al., 2017). O filme a base de amido de mandioca adicionado do extrato de alecrim, não apresentou diferenças a resistência a tração, que foi aproximadamente 0,7 MPa para os filmes com diversas concentrações de extratos e sem adição de extrato, entretanto a elongação de ruptura reduziu significativamente, e o módulo de Young, aumentou cerca de três vezes nos filmes com adição de extrato (PINEROS-HERNANDES et al., 2017). Já no estudo López-Córdoba e colaboradores (2017) a adição de extrato de alecrim no formato de nanopartículas proporcionou um comportamento contrário ao do presente estudo, ou seja, foi capaz de aumentar a resistência à tração e o módulo de Young dos filmes a base de amido de mandioca, mas reduziu a elongação de ruptura.

As propriedades de tração dos filmes podem ser influenciadas pela homogeneidade da matriz do filme biodegradável, já que matriz mais heterogênea pode ser ocasionada por uma fraca interação entre as cadeias poliméricas, criando possíveis pontos de

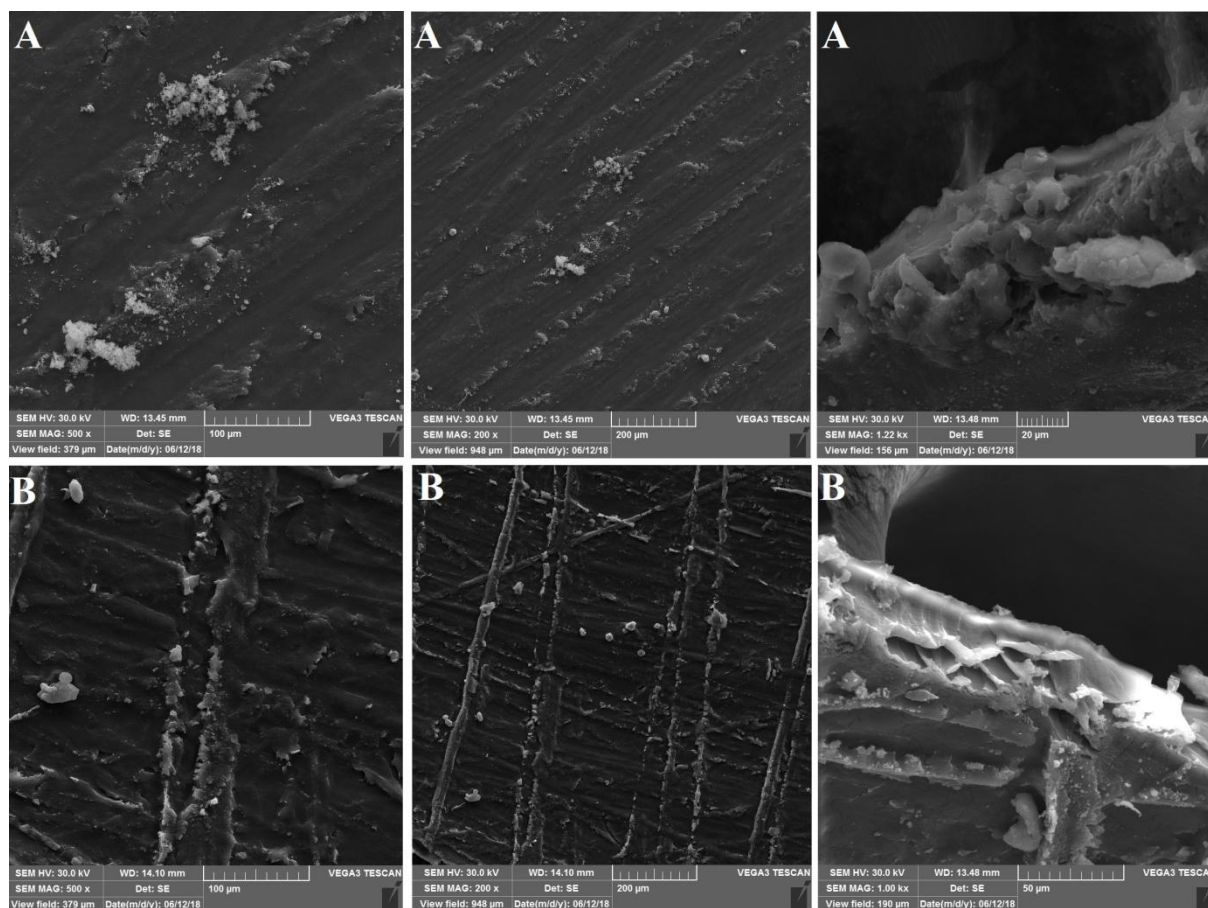
ruptura (KECHICHIAN et al., 2010; PINEROS-HERNANDES et al., 2017). Os resultados das propriedades mecânicas indicam que o filme a base de amido de mandioca com adição de extrato de polpa de tamarindo apresenta uma matriz polimérica menos homogênea, consequentemente são menos rígidos e resistentes que o filme contendo apenas amido e glicerol, mas em contrapartida, são mais flexíveis. Indicando que o extrato tem um efeito plastificante no filme de amido, como o glicerol, que reduz a resistência à tração, mas aumenta a elasticidade (CAETANO et al., 2018).

3.1.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

A microscopia eletrônica de varredura da superfície e da seção transversal dos filmes a base de amido de mandioca, sem e com adição de extrato de polpa de tamarindo são apresentados na Figura 2. Em ambos os filmes são observadas a presença de aglomerações. Entretanto, como observado nos resultados das propriedades mecânicas, após a adição do extrato de polpa de tamarindo no filme a base de amido, a matriz polimérica formada ficou menos homogênea (Figura 2B), que no filme contendo apenas amido de mandioca e glicerol (Figura 2A), isso pode ter contribuído para a redução da resistência a tração e do módulo de Young no filme com extrato. A incorporação de uma nova substância a matriz polimérica, como o extrato de polpa de tamarindo, pode contribuir para a presença de novas interações entre os componentes que a constituem, alterando a estrutura final do filme (PELLISSARI et al., 2013).

As imagens da MEV das seções transversal dos filmes a base de mandioca com adição do extrato de polpa de tamarindo mostra um material com uma maior formação de camadas, laminas, que o filme a base de amido de mandioca sem extrato. Fato que pode ser atribuído à ruptura da rede dos filmes pela presença de compostos antioxidantes que apresentam caráter hidrofóbico, conferido pelas cadeias de hidrocarbonetos, o que pode dificultar sua solubilização na água (LÓPEZ-CÓRDOBA et al., 2017).

Figura 2 – Microscopia eletrônica de varredura das superfícies (1º e 2º coluna) e seção transversal (3º coluna) dos filmes a base de amido de mandioca sem incorporação de extrato (A) e com incorporação de extrato de polpa de tamarindo (B).



3.2 Capacidade antioxidante “in vitro”

Os resultados da avaliação da capacidade antioxidante, pelo método de capacidade de eliminação dos radicais DPPH e ABTS, e capacidade de redução férrica (FRAP) dos filmes a base de amido sem e com adição de extrato de polpa de tamarindo são apresentados na Tabela 3. Pode-se observar que para todos os métodos, a capacidade antioxidante do filme adicionado de extrato foi significativamente ($p < 0,05$) maior que o filme sem adição de extrato.

Tabela 3 - Capacidade antioxidante dos filmes a base de amido de mandioca sem e com adição de 3,1% do extrato de polpa de tamarindo.

Filme	DPPH		ABTS (μM Trolox g^{-1})	FRAP (mg AG g^{-1})
	EC ₅₀ (mg g^{-1})	% Inibição		
Extrato	1,86 \pm 0,22 ^b	33,10 \pm 2,12 ^a	6,76 \pm 2,32 ^a	0,016 \pm 0,006 ^a
Amido	5,65 \pm 0,73 ^a	23,72 \pm 0,18 ^b	2,56 \pm 0,22 ^b	0,004 \pm 0,000 ^b

Médias seguidas por letras iguais na mesma coluna não apresentam diferença significativa ($p < 0,05$).

Como mencionado no Capítulo 1 do presente estudo, o método de determinação da capacidade antioxidante pela eliminação de radicais DPPH e ABTS, e redução férrica, é baseado em reações das substâncias antioxidantes presentes nos filmes com os radicais livres, ou no caso do método FRAP, quanto à capacidade de reduzir o ferro férrico (Fe^{3+}) a ferro ferroso (Fe^{2+}) (GRZESIK et al., 2018; SCHAICH e XIE, 2015; ZAMANI et al., 2018).

A capacidade antioxidante de filmes a base de amido de mandioca, adicionados de 5% de extrato de alecrim, relatado no estudo de Pineros-Hernandez e colaboradores (2017), apresentaram uma % inibição do radical DPPH (28,6%) inferior ao do presente estudo para o filme adicionado de extrato de polpa de tamarindo. A porcentagem de inibição do radical DPPH encontrado neste estudo também é superior à obtida por Caetano e colaboradores (2018), para filmes a base de amido de mandioca contendo 3% de extrato de resíduo de abóbora, que foi de 17,9%. As diferenças entre a capacidade antioxidante de filmes a base de amido de mandioca pode ser associada à concentração e a classe de substâncias que constituem os extratos adicionados. Principalmente a presença de compostos fenólicos (CAETANO et al., 2018). A polpa de tamarindo contém vários compostos com potencial antioxidante como compostos fenólicos, como a catequina, procianidina e taninos, e ácidos orgânicos, como o ácido tartárico (MARTINELLO et al., 2017; RAZALI et al., 2012; REIS et al., 2016; SAMAL e DANGI, 2014; TRIL et al., 2014; UCHENNA et al., 2017).

Adilah e colaboradores (2018a) avaliaram a capacidade antioxidante pelo método DPPH, de filmes a base de gelatina de peixe sem e com adição de extrato de casca de manga, e também concluíram que a presença do extrato contribuía significativamente para aumentar a capacidade antioxidante, entretanto eles encontraram valores de inibição superiores ao do presente estudo, cerca de 75% de inibição. Essa diferença pode ser atribuída à gelatina de peixe, que segundo os autores, apresenta reconhecida capacidade antioxidante,

devido à fração peptídica da própria cadeia de gelatina. No estudo realizado por Bonilla e colaboradores (2018) avaliando a capacidade antioxidante de filmes a base de quitosana e gelatina, adicionados de eugenol e óleo essencial de gengibre, a capacidade antioxidante foi igual a 7 mM Trolox/g, valor superior ao do presente estudo. Isso pode ser atribuído ao tipo de substâncias adicionadas ao filme, já que no presente estudo, foi adicionado um extrato, que constitui uma mistura complexa de substâncias, enquanto que no estudo de Bonilla et al. (2018) foram adicionados óleos essenciais, com reconhecida capacidade antioxidante.

Assim como no presente estudo, a incorporação de extrato de caroço de manga em filmes a base de proteína isolada de soja, proporcionou um aumento da capacidade antioxidante pelo método FRAP, entretanto, a capacidade antioxidante observada foi inferior ao deste estudo, com 3% de extrato foi igual a 0,0025 mg AG/g (ADILAH et al., 2018b). Kurek e colaboradores (2018) também investigaram a incorporação de extratos na formulação de filmes, pelo método FRAP e constataram um aumento significativo da capacidade antioxidante, os filmes a base de quitosana adicionados de extrato de mirtilo e extrato de amora, apresentaram uma capacidade antioxidante igual a 15,87 e 83,78 mg ácido ascórbico/g, respectivamente, enquanto o filme contendo quitosana não apresentou atividade antioxidante.

4 CONCLUSÕES

A incorporação do extrato foi capaz de melhorar consideravelmente as características de elongação e a capacidade antioxidante do filme a base de amido de mandioca, sem interferir significativamente no conteúdo de umidade, solubilidade em água e espessura. Entretanto, impactou negativamente nas propriedades de resistência a tração, podendo interferir na aplicação final do filme. Assim sendo, o filme adicionado de extrato de polpa de tamarindo apresenta potencial para ser uma embalagem ativa, contribuir para um maior aproveitamento do tamarindo, para reduzir resíduos plásticos, e também prolongar a vida de prateleira de alimentos.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADILAH, A. N.; JAMILAH, B.; NORANIZAN, M. A.; HANANI, Z. N. Utilization of mango peel extracts on the biodegradable films for active packaging. **Food packaging and shelf life**, v. 16, p. 1-7, 2018a.

ADILAH, Z. M.; JAMILAH, B.; HANANI, Z. N. Functional and antioxidant properties of protein-based films incorporated with mango kernel extract for active packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 74, p. 207-218, 2018b.

ASSIS, R. Q.; LOPES, S. M.; COSTA, T. M. H.; FLÔRES, S. H.; DE OLIVEIRA RIOS, A. Active biodegradable cassava starch films incorporated lycopene nanocapsules. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 818-827, 2017.

ASTM, Standard test method for moisture content of paper and paperboard by oven drying (D644-99). In Annual book of ASTM standards. Philadelphia: American Society for Testing and Materials, 1999.

ASTM – American Society for Testing and Materials, ASTM D882-12. Standard Test Method for Tensile Properties of Thin Plastic Sheeting, **Book of Standards: ASTM International**, v. 08.01, 2012.

BENZIE, I. F.; STRAIN, J. J. The Ferric Reducing Ability of Plasma (FRAP) as a Measure of “Antioxidant Power”: The FRAP Assay. **Analytical Biochemistry**. v. 239, p. 70-76, 1996.

BINOJ, J. S.; RAJ, R. E.; DANIEL, B. S. S. Comprehensive characterization of industrially discarded fruit fiber, *Tamarindus indica* L. as a potential eco-friendly bio-reinforcement for polymer composite. **Journal of Cleaner Production**, v. 142, p. 1321-1331, 2017.

BONILLA, J.; POLONI, T.; LOURENÇO, R. V.; SOBRAL, P. J. Antioxidant potential of eugenol and ginger essential oils with gelatin/chitosan films. **Food bioscience**, v. 23, p. 107-114, 2018.

CAETANO, K. S.; LOPES, N. A.; COSTA, T. M. H.; BRANDELLI, A.; RODRIGUES, E.; FLÔRES, S. H.; CLADERA-OLIVERA, F. Characterization of active biodegradable films based on cassava starch and natural compounds. **Food packaging and shelf life**, v. 16, p. 138-147, 2018.

CARISSIMI, M.; FLÔRES, S. H.; RECH, R. Effect of microalgae addition on active biodegradable starch film. **Algal research**, v. 32, p. 201-209, 2018.

CHEN, Q.; FUNG, K. Y.; LAU, Y. T.; NG, K. M.; LAU, D. T. Relationship between maceration and extraction yield in the production of Chinese herbal medicine. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 236-243, 2016.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**. v. 105, p. 76-93, 2018.

DEHGHANI, S.; HOSSEINI, S. V.; REGENSTEIN, J. M. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. **Food chemistry**, v. 240, p. 505-513, 2018.

DURANGO, A. M.; DE FF SOARES, N.; ARTEAGA, M. R. Filmes y revestimientos comestibles como empaques activos biodegradables en la conservación de alimentos. **Biotecnología en el Sector Agropecuario y Agroindustrial: BSAA**, v. 9(1), p. 112-118, 2011.

EBRAHIMI, S. E.; KOOCHEKI, A.; MILANI, E.; MOHEBBI, M. Interactions between *Lepidium perfoliatum* seed gum–Grass pea (*Lathyrus sativus*) protein isolate in composite biodegradable film. **Food Hydrocolloids**, v. 54, p. 302-314, 2016.

FERREIRA, M. S.; FAI, A. E. C.; ANDRADE, C. T.; PICCIANI, P. H.; AZERO, E. G.; GONÇALVES, É. C. Edible films and coatings based on biodegradable residues applied to acerolas (*Malpighia puniceifolia* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96(5), p. 1634-1642, 2016.

GALDEANO, M. C.; WILHELM, A. E.; MALI, S.; GROSSMANN, M. V. E. Influence of thickness on properties of plasticized oat starch films. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 56(4), p. 637-644, 2013.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Edible wheat gluten films: influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of food science**, v. 57(1), p. 190-195, 1992.

GRZESIK, M.; NAPARŁO, K.; BARTOSZ, G.; SADOWSKA-BARTOSZ, I. Antioxidant properties of catechins: Comparison with other antioxidants. **Food Chemistry**, v. 241, p. 480-492, 2018.

HASHEMI, S. M. B.; KHANEGHAH, A. M. Characterization of novel basil-seed gum active edible films and coatings containing oregano essential oil. **Progress in Organic Coatings**, v. 110, p. 35-41.

JANSSON, A.; THUVANDER, F. Influence of thickness on the mechanical properties for starch films. **Carbohydrate polymers**, v. 56(4), p. 499-503, 2004.

JARAMILLO, C. M.; GUTIÉRREZ, T. J.; GOYANES, S.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Biodegradability and plasticizing effect of yerba mate extract on cassava starch edible films. **Carbohydrate polymers**, v. 151, p. 150-159, 2016.

KECHICHIAN, V.; DITCHFIELD, C.; VEIGA-SANTOS, P.; TADINI, C. C. Natural antimicrobial ingredients incorporated in biodegradable films based on cassava starch. **LWT-Food Science and Technology**, v. 43(7), p. 1088-1094, 2010.

KIM, S. R. B.; CHOI, Y. G.; KIM, J. Y.; LIM, S. T. Improvement of water solubility and humidity stability of tapioca starch film by incorporating various gums. **LWT-Food Science and Technology**, v. 64(1), p. 475-482, 2015.

KUREK, M.; GAROFULIĆ, I. E.; BAKIĆ, M. T.; ŠČETAR, M.; UZELAC, V. D.; GALIĆ, K. Development and evaluation of a novel antioxidant and pH indicator film based on

chitosan and food waste sources of antioxidants. **Food Hydrocolloids**, v. 84, p.238-246, 2018.

LI, L.; CHEN, H.; WANG, M.; LV, X.; ZHAO, Y.; XIA, L. Development and characterization of irradiated-corn-starch films. **Carbohydrate polymers**, v. 194, p. 395-400, 2018.

LOPES, F. A.; SOARES, N. D. F. F.; LOPES, C. D. C. P.; da SILVA, W. A. Desenvolvimento e caracterização de filmes de base celulósica incorporados com aldeído cinâmico/Development and characterization of cellulose-based films with cinnamaldehyde incorporated. **Brazilian Journal of Food Technology**, v. 17(1), p. 33.

LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; MEDINA-JARAMILLO, C.; PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; GOYANES, S. Cassava starch films containing rosemary nanoparticles produced by solvent displacement method. **Food Hydrocolloids**, v. 71, p. 26-34, 2017.

LUCHESI, C. L.; SPADA, J. C.; TESSARO, I. C. Starch content affects physicochemical properties of corn and cassava starch-based films. **Industrial Crops and Products**, v. 109, p. 619-626, 2017.

MARCOS, B.; SÁRRAGA, C.; CASTELLARI, M.; KAPPEN, F.; SCHENNINK, G.; ARNAU, J. Development of biodegradable films with antioxidant properties based on polyesters containing α -tocopherol and olive leaf extract for food packaging applications. **Food Packaging and Shelf Life**, v. 1(2), p. 140-150, 2014.

MARTINELLO, F.; KANNEN, V.; FRANCO, J. J.; GASPAROTTO, B.; SAKITA, J. Y.; SUGOHARA, A.; UYEMURA, S. A. Chemopreventive effects of a *Tamarindus indica* fruit extract against colon carcinogenesis depends on the dietary cholesterol levels in hamsters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 107, p. 261-269, 2017.

MATTA JR, M. D. D.; SARMENTO, S.; SARANTÓPOULOS, C. I.; ZOCCHI, S. S. Propriedades de barreira e solubilidade de filmes de amido de ervilha associado com goma xantana e glicerol. **Polímeros**, v. 21(1), p. 67-72, 2011.

MEDINA-JARAMILLO, C.; OCHOA-YEPES, O.; BERNAL, C.; FAMÁ, L. Active and smart biodegradable packaging based on starch and natural extracts. **Carbohydrate polymers**, p. 176, v. 187-194, 2017.

NORAPHAIPHIPAKSA, N.; SOCHU, W.; MANONUKUL, A.; KANCHANOMAI, C. Experimental and numerical investigations to determine the modulus and fracture mechanics of tamarind seed (*Tamarindus indica* L.). **Biosystems Engineering**, v. 151, p. 17-27, 2016.

PAZ, M.; CORREIA-SÁ, L.; BECKER, H.; LONGHINOTTI, E.; DOMINGUES, V. F.; DELERUE-MATOS, C. Validation of QuEChERS method for organochlorine pesticides analysis in tamarind (*Tamarindus indica*) products: Peel, fruit and commercial pulp. **Food Control**, v. 54, p. 374-382, 2015.

PELISSARI, F. M.; ANDRADE-MAHECHA, M. M.; do AMARAL SOBRAL, P. J.; MENEGALLI, F. C. Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). **Food Hydrocolloids**, v. 30(2), p. 681-690, 2013.

PERAZZO, K. K. N. C. L.; de VASCONCELOS CONCEIÇÃO, A. C.; dos SANTOS, J. C. P.; de JESUS ASSIS, D.; SOUZA, C. O.; DRUZIAN, J. I. Properties and antioxidant action of actives cassava starch films incorporated with green tea and palm oil extracts. **PloS one**, v. 9(9), p. e105199, 2014.

PIÑEROS-HERNANDEZ, D.; MEDINA-JARAMILLO, C.; LÓPEZ-CÓRDOBA, A.; GOYANES, S. Edible cassava starch films carrying rosemary antioxidant extracts for potential use as active food packaging. **Food Hydrocolloids**, v. 63, p. 488-495, 2017.

RAZALI, N.; MAT-JUNIT, S.; ABDUL-MUTHALIB, A. F.; SUBRAMANIAM, S.; ABDUL-AZIZ, A. Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. **Food Chemistry**, v. 131(2), p. 441-448, 2012.

REIS, L. C. B.; de SOUZA, C. O.; da SILVA, J. B. A.; MARTINS, A. C.; NUNES, I. L.; DRUZIAN, J. I. Active biocomposites of cassava starch: The effect of yerba mate extract and mango pulp as antioxidant additives on the properties and the stability of a packaged product. **Food and Bioproducts Processing**, v. 94, p. 382-391, 2015.

REIS, P. M. C. L.; DARIVA, C.; VIEIRA, G. Â. B.; HENSE, H. Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. **Journal of Food Engineering**, v. 173, p. 116-123, 2016.

RODSAMRAN, P.; SOTHORNVIT, R. Bioactive coconut protein concentrate films incorporated with antioxidant extract of mature coconut water. **Food Hydrocolloids**. v. 79, p. 243-252, 2018.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; PÉREZ-JIMÉNEZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. D. Determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS^{•+} - Metodologia Científica. EMBRAPA, Fortaleza, CE, Brazil, 2007.

SAMAL, P. K.; DANGI, J. S. Isolation, preliminary characterization and hepatoprotective activity of polysaccharides from *Tamarindus indica* L. **Carbohydrate polymers**, v. 102, p. 1-7, 2014.

SANYANG, M. L.; SAPUAN, S. M.; JAWAID, M.; ISHAK, M. R.; SAHARI, J. Effect of plasticizer type and concentration on physical properties of biodegradable films based on sugar palm (*Arenga pinnata*) starch for food packaging. **Journal of food science and technology**, v. 53(1), p. 326-336, 2016.

SCHAICH, K. M.; TIAN, X.; XIE, J. Hurdles and pitfalls in measuring antioxidant efficacy: a critical evaluation of ABTS, DPPH, and ORAC assays. **Journal of Functional Foods**, v. 14, p. 111-125, 2015.

SHIN, S. H.; CHANG, Y.; LACROIX, M.; HAN, J. Control of microbial growth and lipid oxidation on beef product using an apple peel-based edible coating treatment. **LWT-Food Science and Technology**, v. 84, p. 183-188, 2017.

TRIL, U.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; ÁLVAREZ, J. Á. P.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, physicochemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of rich-fibre powder extract obtained from tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 155-162, 2014.

UCHENNA, U. E.; SHORI, A. B.; BABA, A. S. *Tamarindus indica* seeds improve carbohydrate and lipid metabolism: An in vivo study. **Journal of Ayurveda and integrative medicine**. p. 1-8, 2017.

WOGGUM, T.; SIRIVONGPAISAL, P.; WITTAYA, T. Characteristics and properties of hydroxypropylated rice starch based biodegradable films. **Food Hydrocolloids**, v. 50, p. 54-64, 2015.

XU, J.; CHEN, S.; HU, Q. Antioxidant activity of brown pigment and extracts from black sesame seed (*Sesamum indicum* L.). **Food chemistry**, v. 91(1), p. 79-83, 2005.

ZAMANI, M.; DELFANI, A. M.; JABBARI, M. Scavenging performance and antioxidant activity of γ -alumina nanoparticles towards DPPH free radical: Spectroscopic and DFT-D studies. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 201, p. 288-299, 2018.

ZHAO, Y.; TEIXEIRA, J. S.; GÄNZLE, M. M.; SALDAÑA, M. D. Development of antimicrobial films based on cassava starch, chitosan and gallic acid using subcritical water technology. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 137, p. 101-110, 2018.

❖ CAPÍTULO 3

EFEITO DA INCORPORAÇÃO DE EXTRATO VEGETAL EM REVESTIMENTO BIODEGRADÁVEL NA CONSERVAÇÃO DE CENOURAS MINIMAMENTE PROCESSADAS

RESUMO

A utilização de revestimentos a base de amido de mandioca são opção para conservação de vegetais minimamente processados. Além disso, há a possibilidade de adicionar aditivos naturais que podem atuar mantendo as qualidades do produto durante o período de armazenamento, e consequentemente, aumentando a vida de prateleira. O efeito do revestimento a base de amido de mandioca com e sem adição de extrato de polpa de tamarindo na vida de prateleira de cenouras minimamente processadas, durante o armazenamento a $9 \pm 2^\circ \text{C}$, por 14 dias foi avaliado. Cenouras submetidas a três tratamentos: revestidas com uma formulação contendo apenas amido de mandioca, revestidas com uma formulação contendo amido de mandioca e extrato de polpa de tamarindo, e apenas sanitização, foram comparadas quanto a perda de massa, firmeza, acidez titulável (AT), pH, teor de fenólicos totais (TFT), teor de carotenoides (TC), análises microbiológicas de contagem de bactérias aeróbias mesófilas, contagem de bolores e leveduras, e determinação do número de coliformes totais. O revestimento a base de amido de mandioca e extrato de polpa de tamarindo foi mais eficiente no controle do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas que os demais tratamentos. A aplicação dos revestimentos também possibilitou um menor crescimento de bolores e leveduras. E o número de coliformes totais até o 7º dia de armazenamento foi inferior nas cenouras revestidas com a solução contendo amido e extrato. Em relação a qualidade físico-química, a perda de massa, firmeza e TC, não apresentaram diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos. A AT e o pH foram mantidos nas cenouras minimamente processadas revestidas em ambos tratamentos. Já o TFT, apesar de ter sido reduzido ao aplicar o revestimento a base de amido e extrato, ao longo do armazenamento não houve alteração significativa, enquanto que para os demais tratamentos o TFT foi significativamente reduzido. Esses resultados indicam que revestimento a base de amido de mandioca adicionado de extrato de polpa de tamarindo é uma boa alternativa para a conservação de cenouras minimamente processadas, pois é capaz de manter a maioria das características físico-químicas, e ser efetivo no controle do crescimento microbiano.

Palavras-chave: minimamente processados, aditivo natural, revestimento biodegradável, vida de prateleira, cenouras.

ABSTRACT

The use of cassava starch-based coatings is an option for preserving minimally processed vegetables. Furthermore, there is the possibility of adding natural additives that can act while maintaining the qualities of the product during the storage period, and consequently increasing shelf life. The effect of cassava starch-based coating with and without addition of tamarind pulp extract on the shelf life of minimally processed carrots during storage at 9 ± 2 °C for 14 days was evaluated. Carrots submitted to three treatments: coated with a formulation containing only cassava starch, coated with a formulation containing cassava starch and tamarind pulp extract, and only sanitization, were compared for loss of mass, firmness, titratable acidity (TA), total phenolic content (TPC), carotenoid content (CC), microbiological analyzes of aerobic mesophilic bacteria counts, mold and yeast counts, and determination of the total coliform number. The cassava starch-based coating and tamarind pulp extract was more efficient in controlling the growth of mesophilic aerobic bacteria than the other treatments. The application of the coatings also allowed a smaller growth of molds and yeasts. And the number of total coliforms up to the 7th day of storage was lower in the carrots coated with the solution containing starch and extract. In relation to the physical-chemical quality, the loss of mass, firmness and CC did not present significant differences ($p < 0.05$) between the treatments. AT and pH were maintained in the minimally processed carrots coated in both treatments. The TPC, although it was reduced when applying the coating of starch and extract, throughout the storage there was no significant change, whereas for the other treatments the TPC was significantly reduced. These results indicate that cassava starch-based coating added with tamarind pulp extract is a good alternative for the conservation of minimally processed carrots, since it is able to maintain most of the physicochemical characteristics and to be effective in controlling growth microbial.

Keywords: minimally processed, natural additive, biodegradable coating, shelf life, carrots.

1 INTRODUÇÃO

Atualmente a utilização de revestimentos comestíveis tem atraído à atenção dos consumidores e das indústrias de alimentos, pois eles atendem as novas demandas do mercado, que exigem embalagens que sejam estáveis, seguras para a saúde, biodegradáveis e obtidas de fontes renováveis. Sendo alternativa para substituição de revestimentos sintéticos, e reduzir embalagens poliméricas tradicionais de origem petroquímica (DAVIDOVIC et al., 2018; DEHGHANI et al., 2018). Revestimentos comestíveis compreendem uma fina camada de material comestível, usado para revestir ou embrulhar vários alimentos, agindo como uma barreira semipermeável a gases e vapor de água entre os produtos alimentares e atmosfera circundante e no controle do movimento de solutos, com isso, protegem e possibilitam prolongar a vida de prateleira dos alimentos (DAVIDOVIC et al., 2018; FENG et al., 2018; HASSAN et al., 2018).

Há diversos alimentos que podem ser aplicados os revestimentos comestíveis, principalmente em produtos de origem animal, que são utilizados com o intuito de prevenir a oxidação lipídica, manutenção da cor, evitar contaminação por microrganismos patogênicos e deteriorantes, redução da qualidade sensorial e manutenção das características físico-químicas (ABDALLAH et al., 2017; BEHBAHANI e FOOLADI, 2018; CARDOSO et al., 2016; SHIN et al., 2017). E em frutas e hortaliças, que são empregados para regular a umidade, os solutos, as trocas gasosas entre a atmosfera interna e externa, proliferação de microrganismos patogênicos e deteriorantes, manutenção das características físico-químicas, evitando a perda de compostos nutricionais e sensoriais, e consequentemente aumentando a vida de prateleira (FENG et al., 2018; MARQUEZ et al., 2017; NCAMA et al., 2018; NAWAB et al., 2017; SABERI et al., 2018). Mas também podem ser aplicados em revestimentos de chocolates, massas, confeitos e nozes (HASSAN et al., 2018).

Revestimentos comestíveis são produzidos a partir de substâncias com propriedades de formação de película, os materiais básicos usados na formulação são polissacarídeos como gomas, amidos, quitosana, pectina, celulose e dextrina, proteínas como as derivadas de gelatina, milho, trigo, soja, amendoim e leite, e lipídeos como as ceras e parafinas, resinas, revestimentos a base de ácidos graxos e acilgliceróis (HASSAN et al., 2018; YOUSUF et al., 2018). A escolha dos materiais que serão utilizados nos revestimentos influi nas características finais e consequentemente direciona a aplicação, com isso, esses biopolímeros podem ser usados em conjunto nas formulações para obter melhores

características e ampliar o potencial de aplicação (EBRAHIMI et al., 2016; FERREIRA et al., 2016).

Além dos constituintes básicos, as formulações dos revestimentos podem conter agentes ativos, que interagem com o alimento através de vários mecanismos, mudando a sua condição para estender a vida de prateleira ou melhorar a segurança e as propriedades sensoriais (GANIARI et al., 2017). Esses agentes ativos podem ser oriundos de fontes naturais, como extratos vegetais e óleos essenciais, que apresentam potencial para aplicação como substituinte de conservantes e antioxidantes sintéticos, que apesar de serem eficientes, podem ser tóxicos, carcinogênicos e de custos mais elevados (COMERT e GOKMEN, 2018). Os compostos fenólicos, ácidos orgânicos, carotenoides, terpenos, entre outros, são os principais compostos responsáveis pela capacidade antioxidante e antimicrobiana de aditivos naturais (HASHEMI e KHANEGHAH, 2017; SHIN et al., 2017).

O *Tamarindus indica* L. é uma espécie de planta tropical pertencente à família das leguminosas e é originária da África tropical, mas de ocorrência na América do Norte e do Sul. Ela é conhecida popularmente como tamarindo, e o fruto contém aproximadamente 55% de polpa, 34% de semente e 11% de casca (NORAPHAIPHIPAKSA et al., 2016). A polpa é azeda e rica em polissacarídeos, com coloração castanho avermelhada podendo chegar ao castanho escuro, dependendo da idade, e contendo várias sementes (BINOJ et al., 2018; SHARMA et al., 2015). Ela é utilizada para produção de sucos, geleias, molhos, como planta medicinal e fonte de antioxidantes e antimicrobianos. A sua utilização como antioxidante e antimicrobiano está relacionada à presença de compostos fenólicos como flavonoides, proantocianidinas, procianidinas e taninos, e também ácidos orgânicos (MARTINELLO et al., 2017; RAZALI et al., 2012; REIS et al., 2016; SAMAL e DANGI, 2014; TRIL et al., 2014; UCHENNA et al., 2017). Podendo ser opção para substituição de aditivos sintéticos na indústria de alimentos.

Neste contexto, este estudo objetivou desenvolver um revestimento comestível a base de amido de mandioca adicionado de extrato de polpa de tamarindo e aplicá-lo em cenouras minimamente processadas armazenadas a $9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, com o intuito inibir alterações físico-químicas e proliferação de microrganismos patogênicos e deteriorantes, e consequentemente prolongar sua vida de prateleira.

2 MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 *Materiais e produtos químicos*

Amido de mandioca, Amafil Indústria e Comércio de Alimentos Ltda. – Cianorte (Brasil). Hipoclorito de sódio, Super Globo Brasil – Contagem (Brasil). Glicerol, grau analítico, Isofar Indústria e Comércio de Produtos Químicos – Duque de Caxias (Brasil). Reagente Folin-Ciocalteu foi obtido da Êxodo Científica – Sumaré (Brasil). Ácido gálico foi adquirido da Petroquímicos Comércio e Indústria Ltda. – Diadema (Brasil). Cloreto de sódio, álcool isopropílico e hexano foram de grau analítico e comprados de LabSynth-Produtos para Laboratórios Ltda. - Diadema (Brasil). Metanol e sulfato de sódio anidro de grau analítico, adquirido de Vetec Química Fina Ltda - Duque de Caxias (Brasil). Acetona, grau analítico, comprado de Cromoline Química Fina Ltda. Diadema (Brasil). Carbonato de sódio, grau analítico, Dinâmica Química Contemporânea Ltda. - Diadema (Brasil). Ágar Batata Dextrose, Plate Count Agar e Caldo Lactose foram adquiridos de HiMedia Laboratories Pvt. Ltd. Mumbai – Índia.

2.2 *Preparo das amostras*

As cenouras (*Daucus carota* L.) foram adquiridas no mercado varejista de Diamantina, Minas Gerais, Brasil, e levadas diretamente para o Laboratório de Tecnologia de Biomassa do Cerrado da Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, setor de Produtos Vegetais. O processamento mínimo das cenouras foi realizado de acordo com o procedimento descrito por Gomes et al. (2005), primeiramente houve uma seleção para padronização do produto final, com o descarte das hortaliças danificadas ou deterioradas, seguida da pré-lavagem em água destilada com imersão total das cenouras, o corte foi realizado com facas de aço inoxidável devidamente sanitizadas, e após as hortaliças foram sanitizadas por imersão em solução de hipoclorito de sódio a 100 ppm por 15 minutos, seguido de enxague por três vezes com água destilada, retirando o excesso de água. Após o processamento mínimo as cenouras foram divididas em três lotes: um só com as cenouras sanitizadas, outro com as cenouras revestidas com a suspensão formadora de filme (SFF) sem extrato de tamarindo e as cenouras revestidas com a SFF adicionada do extrato de polpa de

tamarindo. As cenouras foram pesadas e embaladas em recipientes de polietileno tereftalato (PET) e armazenadas em câmara fria a $9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.3 Obtenção do extrato de polpa de tamarindo

O extrato foi obtido segundo Chen et al. (2016), com adaptações, o método utilizado foi maceração em manta aquecedora, dez gramas da polpa de tamarindo previamente seca e triturada foi embebido em 50 mL de metanol 80% (v/v) e aquecido em manta aquecedora (Even) durante duas horas a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$. Após filtração (Whatman N°. 2) os extratos foram concentrados em banho-maria a $50\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 5,0\text{ }^{\circ}\text{C}$, em chapa de aquecimento (Tecnal - TE-0181), até que os extratos congelassem a uma temperatura $-6,0\text{ }^{\circ}\text{C}$. O extrato obtido foi acondicionado em embalagens ao abrigo da luz e armazenado em refrigerador (Consul – 280) a $-6,0\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.4 Produção dos revestimentos

Os revestimentos comestíveis foram preparados de acordo com Pelissari et al. (2013) com adaptações. As SFF foram preparadas com uma solução de 2% (p/p) de amido de mandioca. As soluções foram homogeneizadas em agitador magnético (Tecnal, modelo TE-0851, Brasil) por 30 minutos, seguida de aquecimento a temperatura do processo ($85\text{ }^{\circ}\text{C}$) sob agitação suave, para evitar a formação de bolhas. Quando a SFF atingiu $85\text{ }^{\circ}\text{C}$ o glicerol (19 g de glicerol/100g de amido) foi adicionado como plastificante, previamente dissolvido em água destilada, e a temperatura do processo foi mantida por 15 minutos. Após, a SFF adicionada do extrato de tamarindo foi resfriada a $50\text{ }^{\circ}\text{C}$ e adicionado o extrato. A concentração do extrato foi 3,1% (g/100g de amido) baseado em testes microbiológicos preliminares da concentração inibitória mínima. As SFF foram resfriadas a temperatura ambiente em banho de gelo, as cenouras minimamente processadas foram imersas por 1,5 minutos e após a secagem, embaladas em recipientes de polietileno tereftalato (PET) e armazenadas em câmara fria a $9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$.

2.5 Qualidade dos vegetais durante o armazenamento

Foram realizadas análises físico-químicas e microbiológicas para comparação dos parâmetros de qualidade das cenouras minimamente processada dos três tratamentos:

- i. Sanitizado – Cenouras minimamente processadas apenas sanitizadas.
- ii. Amido – Cenouras minimamente processadas imersas na SFF contendo apenas amido.
- iii. Amido + Extrato – Cenouras minimamente processadas imersas na SFF adicionada do extrato de polpa de tamarindo.

Os tratamentos foram avaliados quanto a perda de massa, firmeza, pH, acidez titulável (AT), teor de fenólicos totais (TFT), teor de carotenoides (TC) e análises microbiológicas. As cenouras minimamente processadas embaladas em recipientes PET e armazenadas em câmara fria a $9\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$, foram analisadas nos tempos 0, 3, 7 e 14 dias e as análises realizadas em triplicata com os resultados apresentados com as médias e desvio padrão.

2.5.1 Perda de massa

As amostras dos três tratamentos foram pesadas periodicamente em balança analítica (Shimadzu – AUY 220), e a porcentagem da perda de massa foi determinada pela diferença entre o peso inicial e final das cenouras minimamente processadas durante os dias 0, 3, 7 e 14 de armazenamento.

2.5.2 Firmeza

A firmeza dos frutos foi avaliada utilizando um penetrômetro manual (Digilab – FT 327), sendo avaliada a força (N) gasta para romper o tecido da amostra e penetrar a rodela de cenoura.

2.5.3 AT e pH

O AT e pH foram determinados conforme os métodos físico-químicos para análise de alimentos do Instituto Adolfo Lutz (IAL, 2008). AT determinada por titulometria, expressa em porcentagem de ácido málico (g de ácido málico/100g de amostra). O pH foi

determinado por método eletrométrico, utilizando phmetro (ION – pHB500) As análises foram realizadas em triplicata nos dias 0, 3, 7 e 14 dias de armazenamento.

2.5.4 *Teor de fenólicos totais (TFT)*

O TFT foi determinado pelo método de Folin-Ciocalteau segundo Marinova et al. (2005) com adaptações. Foi preparado um extrato metanólico com as amostras de cenoura minimamente processada. Cada extrato metanólico e diluição da solução padrão de ácido gálico (20, 40, 60, 80 e 100 $\mu\text{g mL}^{-1}$) foram diluídos em 3,6 mL água destilada e adicionados de 0,4 mL do reagente de fenol Folin-Ciocalteau, após 5 minutos foram avolumados com água destilada até um volume final de 10 mL, adicionados 4,0 mL de carbonato de sódio (Na_2CO_3) a 7% (p/v) e agitadas em vortex (Biomixer – QL-901) As soluções foram armazenadas a temperatura ambiente ao abrigo da luz por 60 minutos. Após, as absorbâncias foram medidas a 750 nm em espectrofotômetro (Shimadzu – Uvmini-1240). Uma solução contendo apenas metanol 80% (v/v) e os demais reagentes foi utilizada como branco. O TFT foram expressos em mg equivalentes de ácido gálico (EAG)/100g de cenoura minimamente processada. As análises foram realizadas em triplicata nos dias 0, 3, 7 e 14 dias de armazenamento.

2.5.5 *Teor de Carotenoides (TC)*

O teor de carotenoides foi obtido pelo método de solubilização dos carotenoides em hexano segundo o método descrito pela Association Official Analytical Chemists (AOAC, 1990). Foi preparada uma solução inicial com as cenouras minimamente processadas, álcool isopropílico e hexano, em uma proporção 1:3:1. Após, a solução foi filtrada em papel de filtro e a separação dos carotenoides ocorreu pelas lavagens sucessivas da solução com água destilada, obtendo uma camada aquosa e uma camada de hexano, que continha os carotenoides. A porção de hexano foi filtrada com sulfato de sódio anidro, e diluída em 5 mL de acetona e hexano até completar o volume de 50 mL. Após, as absorbâncias foram lidas em espectrofotômetro (Shimadzu – Uvmini-1240) a 450 nm. Hexano foi utilizado como branco. O teor de carotenoides foi obtido pela Equação 1, e expresso em mg de carotenoides/100g de amostra.

$$TC = \frac{(Abs_1 \times 100)}{(250 \times 1 \times W)} \quad (\text{Eq.1})$$

Onde, Abs_1 é a absorbância da amostra, W é a concentração da amostra na solução inicial.

2.5.6 *Análises microbiológicas*

A qualidade microbiológica das cenouras minimamente processadas foi determinada de acordo com as metodologias descritas pela American Public Health Association (APHA, 2001). 25g de cada amostra de cenoura minimamente processada foi homogeneizadas em 225 mL de solução salina 0,85% estéril. A partir desta, foram preparadas diluições seriadas até 10^{-4} . Para coliformes totais foi utilizada a técnica do Número Mais Provável, em caldo lactose (NMP.g⁻¹), para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas (log UFC g⁻¹) foi utilizado meio ágar padrão de contagem (PCA) e incubação a 37 °C, por 48 horas, e para a contagem de bolores e leveduras (log UFC g⁻¹) utilizou-se ágar batata dextrose (BDA) e incubação a 25 °C, por 3 a 5 dias.

2.6 *Análises estatísticas*

Os dados para avaliação da qualidade foram analisados por ANOVA two-way, para determinar o efeito dos tratamentos e do tempo de armazenamento. A comparação de médias múltiplas foi feita pelo teste de Tukey, a 5,0% ($p < 0,05$). O efeito do tempo de armazenamento para cada tratamento foi estudado por análise de regressão. Utilizou-se o software Statistica 7.1 Statsoft, Inc. Os resultados apresentados correspondem à média \pm desvio padrão.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

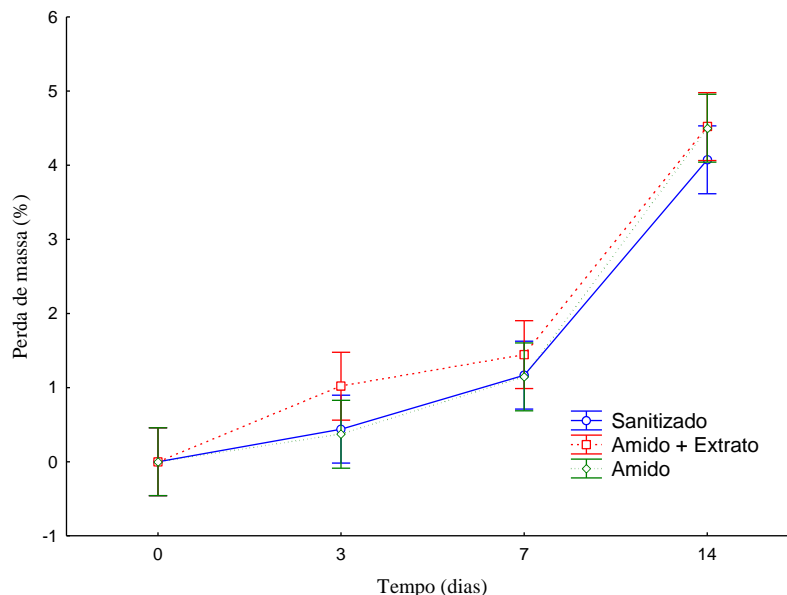
3.1 *Perda de massa*

A perda de massa é um importante parâmetro para avaliar a qualidade durante a vida de prateleira de vegetais minimamente processados. Ao cortar os vegetais, há uma

maior exposição do tecido vegetal a um ambiente com umidade relativa inferior ao produto, ocasionando uma perda substancial de peso. Além disso, a perda de massa pode estar relacionada à perda de umidade dos revestimentos (CHIUMARELLI et al., 2011; NARSAIAH et al., 2015; OLIVAS et al., 2007).

A perda de massa das cenouras minimamente processadas submetidas a diferentes tratamentos é apresentada na Figura 1. Não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre as perdas de massa dos três tratamentos, sanitizado, extrato e amido. Em relação ao tempo de armazenamento, a perda de massa aumentou significativamente ($p < 0,05$) em todos os tratamentos durante os 14 dias. Em média, até o 3º dia ocorreu uma redução de peso de 0,61%, ao 7º dia de armazenamento as cenouras perderam 1,25% do seu peso, e ao completar os 14 dias de armazenamento, a perda de massa média foi de 4,36%. No estudo realizado por Mastromatteo e colaboradores (2012), avaliando a vida de prateleira de cenouras frescas submetidas a diferentes tratamentos com compostos antimicrobianos, revestimentos a base de alginato e embaladas sob atmosfera modificada, a perda de massa não excedeu 3,0% ao longo dos 20 dias de armazenamento, sendo que as amostras revestidas apresentaram maior perda de massa que as cenouras não revestidas. Já no estudo Pushkala e colaboradores (2012), analisando a eficácia de revestimentos em pó a base de quitosana, com e sem adição de ácido cítrico, na conservação de cenouras minimamente processadas, ao longo de 10 dias de armazenamento, a maior perda de massa foi observada para a amostra controle, 5,9%, e a menor perda de massa foi da amostra tratada com quitosana e ácido cítrico, 2,96% ao longo de 10 dias de armazenamento. Ao contrário deste estudo, Botelho e colaboradores (2016) ao avaliarem o efeito de revestimentos a base de amido adicionado de óleo essencial de canela na conservação de goiaba, observaram que o tratamento com revestimentos adicionados com óleo essencial de canela foi capaz de reduzir a perda de massa em 30,23%, quando comparado ao controle.

Figura 1 - Perda de massa das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.

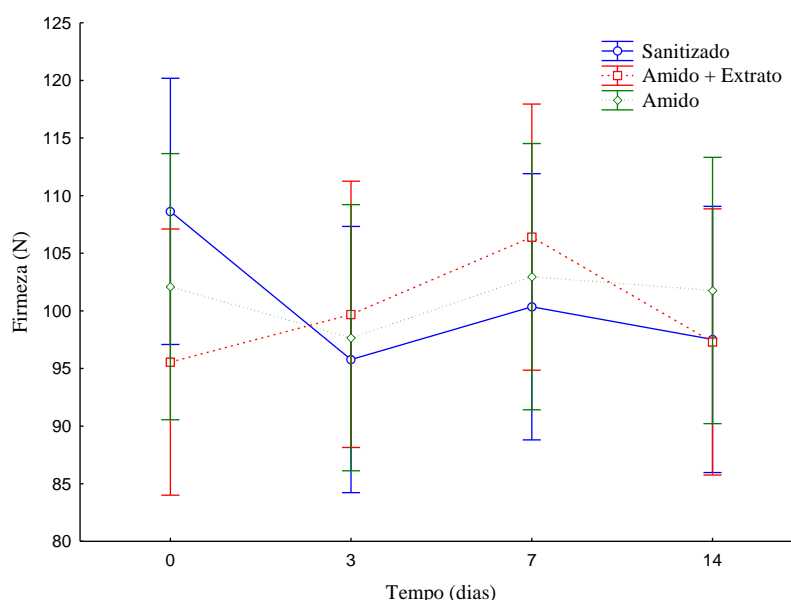


3.2 Firmeza

A textura é um fator importante de qualidade em vegetais, principalmente em relação a aceitação sensorial do produto pelos consumidores. A firmeza dos vegetais pode ser afetada pela perda de água, composição da parede celular e anatomia vegetal (OLIVAS et al., 2007). Em relação à cenoura minimamente processada, a firmeza não foi afetada pela aplicação dos revestimentos, Figura 2. Assim como para a perda de massa, não houve diferenças significativas da firmeza das cenouras entre os tratamentos. No tempo 0, apesar de não significativa ($p < 0,05$), ocorreu uma pequena redução da firmeza das cenouras revestidas com a solução de amido e extrato de polpa de tamarindo. Isso pode estar relacionado à acidez do tamarindo, já que o ácido é capaz de hidrolisar a pectina presente nos tecidos vegetais, ocasionando um amolecimento (RANJITHA et al., 2017). Em contrapartida, ao longo do período de armazenamento, apesar de ter ocorrido uma perda de massa significativa, a firmeza da cenoura minimamente processada não foi alterada. Isso é justificável, já que a textura de vegetais não depende apenas da perda de água, mas também do processamento mínimo, como corte e descascamento, da taxa respiratória e da carga microbiana, que pode ser responsável pela produção de enzimas pectinolíticas (VAISHNAV et al., 2015). Botelho e colaboradores (2016) avaliaram o efeito na conservação de goiabas que foram submetidas a dois

tratamentos: revestidas com solução de amido de mandioca e óleo essencial de canela, e revestidas apenas com a solução de amido e o controle, sem nenhum revestimento, e constataram que nos três tratamentos ocorreram perdas significativas de firmeza, com uma redução de 72,15% no controle, 54,80% no revestimento contendo apenas amido e 60,44% no revestimento com amido e óleo essencial de canela. Avaliando o efeito do revestimento a base de amido de mandioca, quitosana, e uma mistura de óleo essencial de *Lippia gracilis* Schauer na conservação de goiaba, Aquino e colaboradores (2015) observaram que não houve diferença significativa entre os frutos revestidos e o controle.

Figura 2 - Firmeza das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.

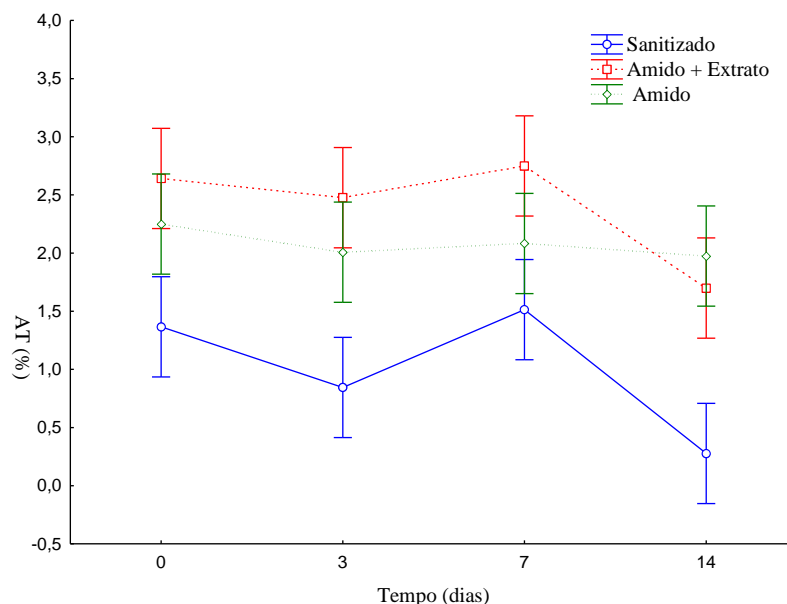


3.3 AT e pH

Durante o processo de amadurecimento de vegetais, os teores de ácidos tendem a diminuir, pois os ácidos atuam como substrato para o metabolismo, podendo ocasionar um aumento do pH (NARSAIAH et al., 2015; OLIVAS et al., 2007). A aplicação do revestimento com extrato de tamarindo aumentou significativamente ($p < 0,05$) a AT das cenouras minimamente processadas, Figura 3. A AT natural do tamarindo pode ter contribuído para o aumento significativo da AT das cenouras. A utilização dos revestimentos foi eficaz em retardar a redução da AT das cenouras minimamente processadas, portanto reduziu o amadurecimento. Apenas as cenouras que foram sanitizadas sofreram influencia do tempo de

armazenamento e diferiu dos outros tratamentos. No 3º dia de armazenamento a AT das cenouras sanitizadas foi significativamente ($p<0,05$) inferior a dos demais tratamentos. Entretanto, no 7º dia de armazenamento houve diferença significativa ($p<0,05$) apenas entre a AT das cenouras sanitizadas, 1,51%, e AT das cenouras revestidas com amido e extrato de tamarindo, 2,75%. Ao final do período de armazenamento a AT das cenouras apenas sanitizadas apresentou diferenças significativas ($p<0,05$) das cenouras analisadas no tempo 0 e 7º dia, e da AT dos demais tratamentos. No estudo de Aquino e colaboradores (2015), a aplicação de revestimentos a base de amido de mandioca também foi capaz de conservar a AT de goiabas. Os teores de AT dos três tratamentos do presente estudo são superiores aos encontrados por Pushkala e colaboradores (2012), ao avaliarem cenoura minimamente processada com aplicação de revestimento a base de quitosana e ácido cítrico, ao longo de 10 dias de armazenamento, mas como neste estudo, o revestimento contendo quitosana e o revestimento contendo quitosana e ácido cítrico, aumentou o teor AT.

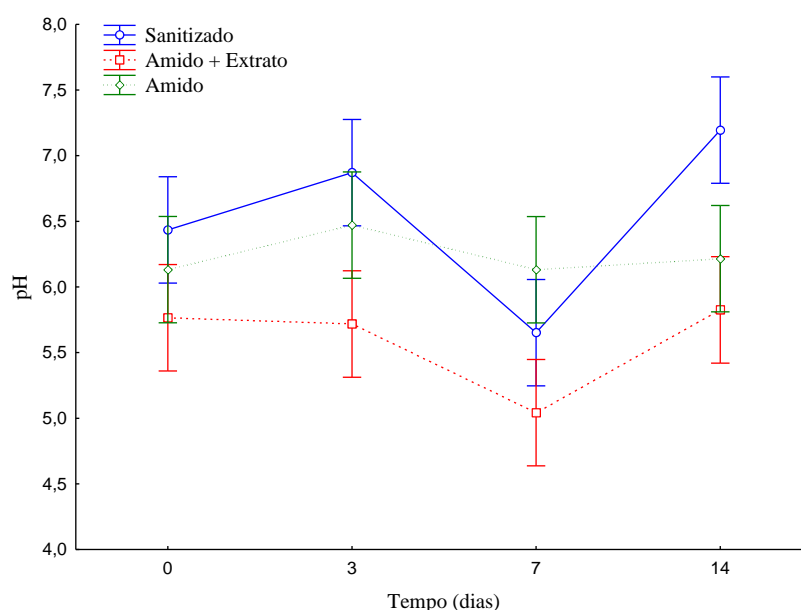
Figura 3 - Acidez titulável das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.



Ao analisar o pH das cenouras minimamente processadas, pode-se observar que houve interação significativa ($p<0,05$) entre os tratamentos realizados e o tempo de armazenamento, ou seja, o pH é função do tempo de armazenamento e do tratamento. Apesar

da diferença significativa da AT das cenouras sanitizadas e das cenouras revestidas com amido de mandioca e extrato no tempo 0, para o pH não foram observadas diferenças significativas ($p < 0,05$) entre todos os tratamentos no tempo 0, Figura 4. Entretanto, no 3º dia de armazenamento, o pH das cenouras revestidas com amido de mandioca e extrato de tamarindo, 5,72, foi significativamente ($p < 0,05$) inferior ao pH das cenouras sanitizadas, 6,97. Também foi observada uma diferença significativa entre a AT desses dois tratamentos no 3º dia de armazenamento. Ao 14º dia de estocagem, as cenouras revestidas com amido e extrato apresentaram o pH (5,83), significativamente diferente ($p < 0,05$) do pH das cenouras sanitizadas (7,19). O único tratamento que apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) ao decorrer do tempo de estocagem foi o de sanitização, onde o pH do 14º dia foi superior ao pH do 7º dia. No estudo de Gómez-López e colaboradores (2007), avaliando a conservação de cenouras minimamente processadas armazenadas sob atmosfera modificada, o pH em média foi igual a 6,0, valor próximo aos pHs determinados no presente estudo. Laceta e colaboradores (2015), também encontraram pHs médios próximos a 6,0 para cenouras minimamente processadas revestidas com quitosana. Assim como neste estudo, Aquino e colaboradores (2015) observaram diferenças significativas do pH de diferentes tratamentos de revestimentos a base de amido e quitosana.

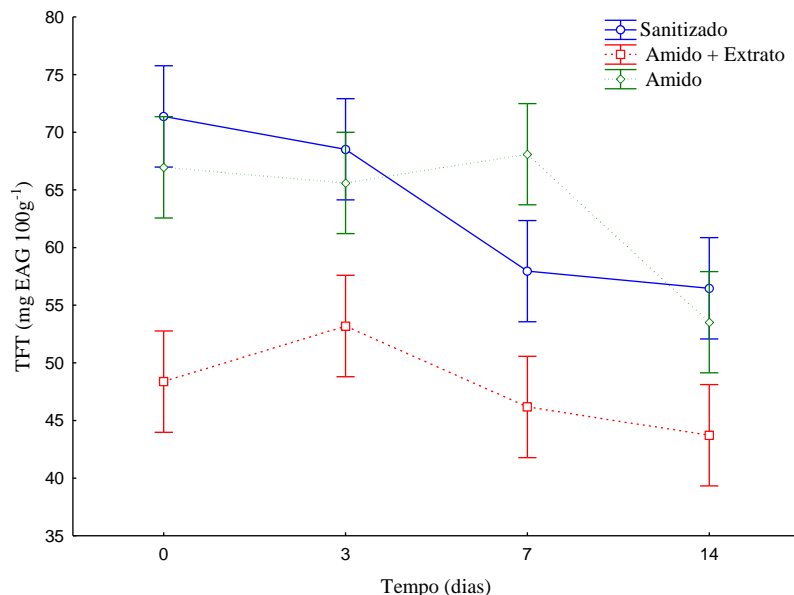
Figura 4 - pH das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.



3.4 Teor de fenólicos totais (TFT)

O conteúdo de fenólicos totais das cenouras minimamente processada, expresso em mg EAG/100 g é apresentado na Figura 5. Houve interação significativa ($p < 0,05$) entre o tempo e o tratamento utilizado ao avaliar o TFT. A aplicação do revestimento a base de amido e extrato de polpa de tamarindo reduziu significativamente ($p < 0,05$) o TFT, ao compará-lo com os demais tratamentos. Isso pode ser associado a uma redução da atividade da enzima fenilalanina amônia-liase, enzima chave na síntese de compostos fenólicos em tecidos vegetais, nesse tratamento (VISHNAV et al., 2015). Apenas ao 14º dia de estocagem não houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre o TFT das cenouras revestidas com amido e extrato de polpa de tamarindo (43,73 mg EAG/100 g) e as cenouras revestidas apenas com amido (53,53 mg EAG/100 g). O TFT das cenouras revestidas com amido e apenas sanitizadas não diferiu significativamente ($p < 0,05$) durante todo o período de armazenamento. Em relação ao tempo de armazenamento, ao longo dos 14 dias de vida de prateleira, o TFT das cenouras sanitizadas reduziu significativamente ($p < 0,05$), de 71,38 mg EAG/100 g no tempo 0, a 56,47 mg EAG/100 g, aos 14 dias. O mesmo pode-se observar para as cenouras revestidas com amido, com um TFT igual a 66,96 mg EAG/100 g no tempo 0, a 53,53 mg EAG/100 g, ao 14º dia. Enquanto as cenouras revestidas com amido e extrato de polpa de tamarindo não apresentou uma redução significativa ao longo do armazenamento. A conservação dos compostos fenólicos pode está associado à inibição da atividade da enzima polifenol oxidase (PUSHKALA et al., 2012). Os TFT obtidos em todos os tratamentos da cenoura minimamente processadas do presente estudo foi consideravelmente superior aos obtidos por Pushkala e colaboradores (2012), em cenouras minimamente processadas revestidas com solução a base de quitosana e ácido cítrico, que o TFT máximo foi de 7,0 mg EAG/100 g. Já no estudo de Alegria e colaboradores (2016), investigando o TFT em cenouras descascadas. Entretanto, no estudo de cenouras cruas realizado por Gonçalves e colaboradores (2010), o TFT foi de 84,0 mg EAG/100 g.

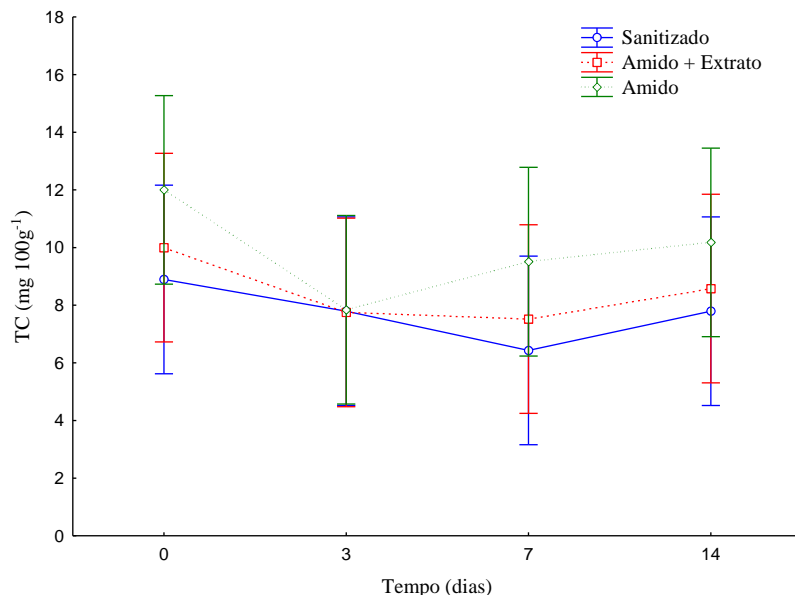
Figura 5 - Teor de fenólicos totais nas cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.



3.5 Teor de Carotenoides (TC)

Cenouras apresentam alto teor de carotenoides, um importante precursor de vitamina A, o que contribui para o valor nutricional desse alimento. Por isso, é importante a conservação de carotenoides em cenouras minimamente processadas (XU et al., 2017). Os teores de carotenoides das cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento são apresentados na Figura 6. Pode-se observar que não houve efeito significativo ($p < 0,05$) do tratamento e do tempo de armazenamento no teor de carotenoides, o teor médio foi igual a 9,21 mg/100 g. O teor de carotenoides obtidos no presente estudo são relativamente próximos aos resultados do estudo de Xu e colaboradores (2017) que foi aproximadamente igual a 13 mg /100g, e do estudo de Kenny e O’Berine (2010), que encontraram um teor de carotenoide igual a 7,0 mg/100 g.

Figura 6 - Teor de carotenoides nas cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.



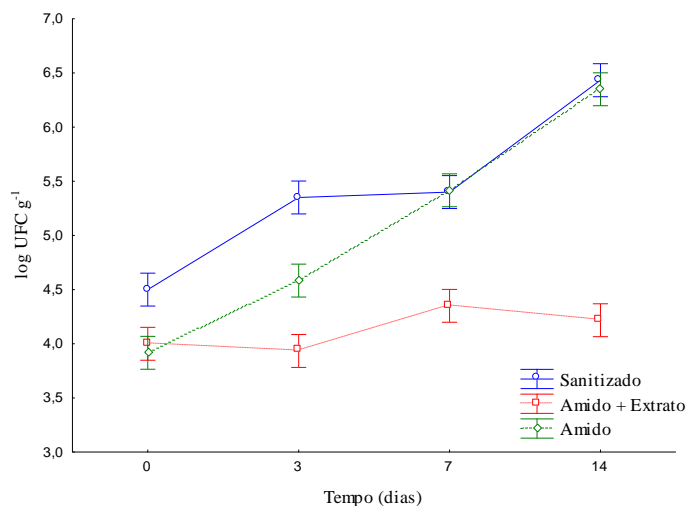
3.6 Análises microbiológicas

A qualidade microbiológica de alimentos é de extrema importância, pois além de deterioração sensorial e nutricional, ela pode ocasionar graves problemas à saúde do consumidor. Hortaliças minimamente processadas estão mais propensas à proliferação de microrganismos, em comparação ao vegetal inteiro, pois, os tecidos estão mais expostos, há uma alta disponibilidade de umidade e nutrientes (NARSAIAH et al., 2015).

O efeito dos três tratamentos, sanitização, revestimento com amido e revestimento com amido e extrato de polpa de tamarindo, no crescimento de bactérias aeróbias mesófilas e bolores e leveduras, em cenouras minimamente processadas pode ser observado na Figura 7 e Figura 8, respectivamente. Houve interação significativa entre o tempo de armazenamento e os tratamentos aplicados, na contagem de bactérias aeróbias mesófilas, Figura 7. Pode-se observar que no tempo 0, a contagem inicial de bactérias não apresentou diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos com revestimento a base de amido (3,92 log UFC/g) e o revestimento a base de amido e extrato de polpa de tamarindo (4,0 log UFC/g). Após 3 dias, a contagem de bactérias aeróbias mesófilas diferiu entre todos os tratamentos, sendo significativamente ($p < 0,05$) superior nas cenouras minimamente processadas sanitizadas, 5,35 log UFC/g. A partir do 7º dia até o 14º dia de armazenamento,

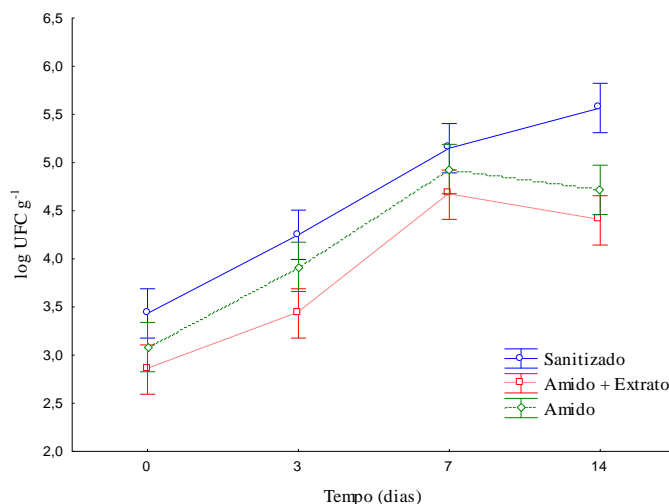
as menores contagens foram observadas nas cenouras revestidas com amido e extrato de polpa de tamarindo, 4,35 log UFC/g e 4,22 log UFC/g, respectivamente, e não houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre as cenouras sanitizadas e revestidas somente com amido. O tratamento com amido de mandioca e extrato de polpa de tamarindo foi mais eficiente em controlar o crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, que os demais tratamentos, apresentando a menor contagem de bactérias ao final do armazenamento. Em relação às cenouras minimamente processadas com revestimento a base de amido, a partir do 3º dia de armazenamento, houve diferença significativa ($p < 0,05$) do número de bactérias em relação às cenouras minimamente processadas revestidas com amido e extrato de polpa de tamarindo, e ao final do tempo de armazenamento, a contagem de bactérias aumentou significativamente ($p < 0,05$). As cenouras minimamente processadas apenas sanitizadas também apresentaram aumento significativo de bactérias aeróbias mesófilas ao longo dos 14 dias de armazenamento. A legislação brasileira não define limites máximos para a contagem de bactérias aeróbias mesófilas em vegetais minimamente processados. Mas, segundo Ranjitha e colaboradores (2017) os níveis máximos estabelecidos para contagem desses microrganismos em frutas frescas minimamente processadas na Espanha e Alemanha são, respectivamente, 7,0 log UFC/g, e 7,7 log UFC/g. Ou seja, em todos os tratamentos a contagem final de bactérias foi inferior à exigida pela legislação desses países. Em um estudo avaliando a capacidade de conservação de cenouras minimamente processadas em embalagens com atmosfera modificada, realizado por Mastromatteo e colaboradores (2012), a contagem de bactérias mesófilas nas cenouras ao final dos 20 dias de armazenamento foi igual a 5,6 log UFC/g, valor acima dos observados nesse estudo quando utilizou revestimento a base de amido e extrato de polpa de tamarindo. Os resultados desse estudo para controle do crescimento de bactérias mesófilas também foram melhores que os obtidos por Pushkala e colaboradores (2012), em cenouras minimamente processadas revestidas com quitosana e ácido cítrico, onde a contagem ao final de 7 dias de armazenamento foi igual a 7,0 log UFC/g.

Figura 7 - Efeito dos tratamentos em bactérias aeróbias mesófilas presentes em cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.



O crescimento de bolores e leveduras foi afetado pelo tempo de armazenamento e pelos tratamentos empregados, Figura 8. No tempo 0, a contagem de bolores e leveduras não diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) nos três tratamentos. A partir do 3º dia, a menor contagem de bolores e leveduras foi nas cenouras revestidas com amido e extrato de polpa de tamarindo 3,43 log UFC/g, mas sem diferenças significativas para as cenouras revestidas com amido, 3,92 log UFC/g. Também não foi significativa a diferença entre as cenouras revestidas com amido e as cenouras sanitizadas, 4,25 log UFC/g. Ao 7º dia de armazenamento, a contagem de bolores e leveduras não diferiu estatisticamente ($p < 0,05$) entre os tratamentos, sendo em média igual a 4,92 log UFC/g. Ao fim do armazenamento, 14 dias, a contagem de bolores e leveduras foi significativamente ($p < 0,05$) maior nas cenouras sanitizadas 5,57 log UFC/g, já para os dois tratamentos com revestimentos, não houve diferença significativa entre eles. Ao longo dos 14 dias, para os três tratamentos ocorreu um aumento significativo ($p < 0,05$) na contagem de bolores e leveduras até o 7º dia, ao final do processo, do 7º ao 14º dia, não houve diferença significativa na contagem. Assim como neste estudo, Laceta e colaboradores (2015) observaram um efeito positivo da aplicação de revestimentos à base de quitosana, na conservação microbiológica de cenouras, ao longo de 15 dias de armazenamentos, com contagens de bolores e leveduras que variaram de 4,25 log UFC/g a 4,75 log UFC/g. Também conservando cenouras com revestimentos a base de quitosana, Pushkala e colaboradores (2012) observaram uma redução na contagem de bolores e leveduras, com uma carga microbiana final igual a 3,5 log UFC/g.

Figura 8 - Efeito dos tratamentos em bolores e leveduras presentes em cenouras minimamente processadas ao longo do tempo de armazenamento.



Os resultados da análise de coliformes totais presente em cenouras minimamente processada submetido a três tratamentos diferentes são apresentados na Tabela 1. Houve interação significativa ($p < 0,05$) entre o tempo de armazenamento e os tratamentos empregados para análise de coliformes totais. Pode-se observar que houve um aumento significativo ($p < 0,05$) na contagem de coliformes totais para os três tratamentos. Até o 3º dia de armazenamento, não houve diferença significativa do número de coliformes totais entre os tratamentos. Ao 7º dia de armazenamento, houve diferença significativa ($p < 0,05$) entre os três tratamentos, o menor número de coliformes total observado foi na amostra revestida com amido e extrato de polpa de tamarindo, 20 NMP/g, seguido pelas cenouras revestidas com amido, 240 NMP/g, e a maior contagem foi à cenoura apenas sanitizada, >1100 NMP/g. Ao fim do tempo de armazenamento, 14 dias, em todos os tratamentos o número de coliformes totais foi >1100 NMP/g.

Tabela 1 - Efeito dos tratamentos em coliformes totais presentes em cenouras minimamente processadas.

Tratamento	Coliformes totais (NMP/g)			
	Tempo de armazenamento (dias)			
	0	3	7	14
Sanitizado	43 ^a	11,0 ^a	>1100 ^c	>1100 ^c
Amido + Extrato	0,0 ^a	4,0 ^a	20 ^a	>1100 ^c
Amido	0,0 ^a	4,0 ^a	240 ^b	>1100 ^c

Médias seguidas por letras diferentes indicam diferença estatística significativa pelo teste de Tukey (p<0,05).

De forma geral, a utilização de revestimentos a base de amido e revestimento a base de amido adicionado de extrato de polpa de tamarindo, foi eficiente no controle do desenvolvimento de microrganismos nas cenouras minimamente processadas. Sendo que o revestimento adicionado de extrato foi mais eficiente no controle do crescimento de bactérias mesófilas durante todo o período de armazenamento, e no controle de coliformes totais até o 7º dia de armazenamento. O desenvolvimento de microrganismos ao longo da vida de prateleira de alimentos depende de diversos fatores, como a embalagem utilizada, a temperatura de armazenamento, o período de armazenamento, e composição físico-química do alimento (LACETA et al., 2015). A ação antimicrobiana do extrato da polpa de tamarindo pode está associado à presença de compostos bioativos como os terpenos, catenina, procianidina, catequinas, ácido tartárico e ácidos graxos. As concentrações destes compostos podem variar com a espécie utilizada, a região de colheita, idade da planta, e manejos pós-colheita (KURU, 2014; REIS et al., 2016).

A Tabela 2 apresentam as equações de regressão dos parâmetros de qualidade das cenouras minimamente processadas submetidas a três tratamentos diferentes em função do tempo de armazenamento.

Tabela 2 - Equações de regressão dos parâmetros de qualidade das cenouras minimamente processadas em função do tempo de armazenamento.

Parâmetros	Equações de regressão		
	Sanitizado	Amido + Extrato	Amido
Perda de massa (%)	$y = 0,0168x^2 + 0,0521x + 0,0406$ $R^2 = 0,9807$	$y = 0,0129x^2 + 0,1274x + 0,1613$ $R^2 = 0,9277$	$y = 0,0216x^2 + 0,0152x + 0,0407$ $R^2 = 0,9726$
Firmeza (N)	$y = 0,1095x^2 - 2,1152x + 106,31$ $R^2 = 0,095$	$y = -0,1851x^2 + 2,7877x + 94,768$ $R^2 = 0,2026$	$y = 0,0104x^2 - 0,0453x + 100,74$ $R^2 = 0,0199$
AT (% ácido málico)	$y = -0,0094x^2 + 0,0726x + 1,1632$ $R^2 = 0,5769$	$y = -0,0096x^2 + 0,0758x + 2,5469$ $R^2 = 0,4666$	$y = 0,0016x^2 - 0,0384x + 2,2058$ $R^2 = 0,0781$
pH	$y = 0,0167x^2 - 0,2086x + 6,7171$ $R^2 = 0,3494$	$y = 0,0126x^2 - 0,1829x + 5,8856$ $R^2 = 0,3303$	$y = -0,0013x^2 + 0,0157x + 6,2263$ $R^2 = 0,0161$
TFT (mg EAG/100g)	$y = 0,0946x^2 - 2,4959x + 72,551$ $R^2 = 0,7024$	$y = -0,0383x^2 + 0,0645x + 49,915$ $R^2 = 0,4188$	$y = -0,1368x^2 + 1,0477x + 65,948$ $R^2 = 0,7545$
TC (mg/100g)	$y = 0,046x^2 - 0,8546x + 10,864$ $R^2 = 0,4828$	$y = 0,0558x^2 - 0,9333x + 10,809$ $R^2 = 0,5898$	$y = 0,041x^2 - 0,6697x + 11,627$ $R^2 = 0,1102$
Bactérias aeróbias mesófilas (log UFC/g)	$y = -0,0016x^2 + 0,1493x + 4,6292$ $R^2 = 0,8982$	$y = -0,0032x^2 + 0,0672x + 3,9258$ $R^2 = 0,3744$	$y = -0,0055x^2 + 0,2519x + 3,9044$ $R^2 = 0,9976$
Bolores e leveduras (log UFC/g)	$y = -0,0128x^2 + 0,3332x + 3,4123$ $R^2 = 0,9916$	$y = -0,0185x^2 + 0,38x + 2,7289$ $R^2 = 0,8581$	$y = -0,0198x^2 + 0,3985x + 3,0262$ $R^2 = 0,9274$

4 CONCLUSÕES

A conservação de cenouras minimamente processadas utilizando revestimentos à base de amido de mandioca, com e sem adição de extratos de polpa de tamarindo, não tiveram efeito significativo na perda de massa fresca, firmeza e teor de carotenoides, ao comparar com as cenouras minimamente processadas sanitizadas. Já a acidez titulável e o pH das cenouras revestidas com amido e extrato foram alterados. O teor de fenólicos totais foi degradado pela adição de extrato de polpa de tamarindo no revestimento, mas ao longo do armazenamento, as concentrações se mantiveram, enquanto que para os demais tratamentos houve uma redução significativa no teor de fenólicos totais. Em relação à qualidade microbiológica das cenouras minimamente processadas, ao longo dos 14 dias de armazenamento, o revestimento de amido adicionado de extrato de polpa de tamarindo foi eficiente em controlar o crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras, e coliformes totais. Esses resultados indicam que revestimento a base de amido de mandioca adicionado de extrato de polpa de tamarindo é uma boa alternativa para a conservação de cenouras minimamente processadas, pois é capaz de manter a maioria das características físico-químicas, e controlar o crescimento microbiano.

5 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDALLAH, M. R.; MOHMAED, M. A.; MOHAMED, H. M.; EMARA, M. M. Improving the sensory, physicochemical and microbiological quality of pastirma (A traditional dry cured meat product) using chitosan coating. **LWT-Food Science and Technology**, v. 86, p. 247-253, 2017.

ALEGRIA, C.; GONÇALVES, E. M.; MOLDÃO-MARTINS, M.; CISNEROS-ZEVALLOS, L.; ABREU, M. Peel removal improves quality without antioxidant loss, through wound-induced phenolic biosynthesis in shredded carrot. **Postharvest Biology and Technology**, v. 120, p. 232-239, 2016.

AQUINO, A. B.; BLANK, A. F.; de AQUINO SANTANA, L. C. L. Impact of edible chitosan–cassava starch coatings enriched with *Lippia gracilis* Schauer genotype mixtures on

the shelf life of guavas (*Psidium guajava* L.) during storage at room temperature. **Food chemistry**, v. 171, p. 108-116, 2015.

AOAC – Association of Official Analytical Chemists. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th ed. Washington, DC, 1990. 1298 p.

APHA In: Frances, P.D., Keith, I. (Eds.), Compendium of Methods for the Microbiological Examination of Foods. Washington, DC, 2001.

BEHBAHANI, B. A.; FOOLADI, A. A. I. Shirazi balangu (*Lallemantia royleana*) seed mucilage: Chemical composition, molecular weight, biological activity and its evaluation as edible coating on beefs. **International journal of biological macromolecules**, v. 114, p. 882-889, 2018.

BINOJ, J. S.; RAJ, R. E.; INDRAN, S. Characterization of industrial discarded fruit wastes (*Tamarindus Indica* L.) as potential alternate for man-made vitreous fiber in polymer composites. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 116, p. 527-534, 2018.

BOTELHO, L. N. S.; ROCHA, D. A.; BRAGA, M. A.; SILVA, A.; de ABREU, C. M. P. Quality of guava cv. 'Pedro Sato' treated with cassava starch and cinnamon essential oil. **Scientia horticulturae**, v. 209, p. 214-220, 2016.

CARDOSO, G. P.; DUTRA, M. P.; FONTES, P. R.; RAMOS, A. D. L. S.; de MIRANDA GOMIDE, L. A.; RAMOS, E. M. Selection of a chitosan gelatin-based edible coating for color preservation of beef in retail display. **Meat science**, v. 114, p. 85-94, 2016.

CHEN, Q.; FUNG, K. Y.; LAU, Y. T.; NG, K. M.; LAU, D. T. Relationship between maceration and extraction yield in the production of Chinese herbal medicine. **Food and Bioproducts Processing**, v. 98, p. 236-243, 2016.

CHIUMARELLI, M.; FERRARI, C. C.; SARANTÓPOULOS, C. I.; HUBINGER, M. D. Fresh cut 'Tommy Atkins' mango pre-treated with citric acid and coated with cassava

(*Manihot esculenta* Crantz) starch or sodium alginate. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 12(3), p. 381-387, 2011.

CÖMERT, E. D.; GÖKMEN, V. Evolution of food antioxidants as a core topic of food science for a century. **Food Research International**. v. 105, p. 76-93, 2018.

DAVIDOVIĆ, S.; MILJKOVIĆ, M.; TOMIĆ, M.; GORDIĆ, M.; NEŠIĆ, A.; DIMITRIJEVIĆ, S. Response surface methodology for optimisation of edible coatings based on dextran from *Leuconostoc mesenteroides* T3. **Carbohydrate Polymers**, v. 184, p. 207-213, 2017.

DEHGHANI, S.; HOSSEINI, S. V.; REGENSTEIN, J. M. Edible films and coatings in seafood preservation: A review. **Food chemistry**, v. 240, p. 505-513, 2018.

EBRAHIMI, S. E.; KOOCHEKI, A.; MILANI, E.; MOHEBBI, M. Interactions between *Lepidium perfoliatum* seed gum–Grass pea (*Lathyrus sativus*) protein isolate in composite biodegradable film. **Food Hydrocolloids**, v. 54, p. 302-314, 2016.

FENG, Z.; WU, G.; LIU, C.; LI, D.; JIANG, B.; ZHANG, X.. Edible coating based on whey protein isolate nanofibrils for antioxidation and inhibition of product browning. **Food Hydrocolloids**, v. 79, p. 179-188, 2018.

FERREIRA, M. S.; FAI, A. E. C.; ANDRADE, C. T.; PICCIANI, P. H.; AZERO, E. G.; GONÇALVES, É. C. Edible films and coatings based on biodegradable residues applied to acerolas (*Malpighia puniceifolia* L.). **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 96(5), p. 1634-1642, 2016.

GANIARI, S.; CHOULITOU, E.; OREOPOULOU, V. Edible and active films and coatings as carriers of natural antioxidants for lipid food. **Trends in Food Science & Technology**, v. 68, p. 70-82, 2017.

GOMES, C. A. O. Hortaliças minimamente processadas / Carlos Alexandre Oliveira Gomes, André Luis Bonnet Alvarenga, Murillo Freire Junior, Sérgio Agostinho Cenci. - Brasília, DF : Embrapa Informação Tecnológica, 2005.

GÓMEZ-LÓPEZ, V. M.; DEVLIEGHERE, F.; RAGAERT, P.; DEBEVERE, J. Shelf-life extension of minimally processed carrots by gaseous chlorine dioxide. **International Journal of Food Microbiology**, v. 116(2), p. 221-227, 2007.

GONÇALVES, E. M.; PINHEIRO, J.; ABREU, M.; BRANDÃO, T. R. S.; SILVA, C. L. Carrot (*Daucus carota* L.) peroxidase inactivation, phenolic content and physical changes kinetics due to blanching. **Journal of Food Engineering**, v. 97(4), p. 574-581, 2010.

HASHEMI, S. M. B.; KHANEGHAH, A. M. Characterization of novel basil-seed gum active edible films and coatings containing oregano essential oil. **Progress in Organic Coatings**, v. 110, p. 35-41, 2017.

HASSAN, B.; CHATHA, S. A. S.; HUSSAIN, A. I.; ZIA, K. M.; AKHTAR, N. Recent advances on polysaccharides, lipids and protein based edible films and coatings: A review. **International journal of biological macromolecules**. v. 109, p. 1095-1107, 2018.

IAL - Instituto Adolfo Lutz (São Paulo). Métodos físico-químicos para análise de alimentos /coordenadores Odair Zenebon, Neus Sadocco Pascuet e Paulo Tiglea - São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, 2008 p. 1020.

KENNY, O.; O'BEIRNE, D. Antioxidant phytochemicals in fresh-cut carrot disks as affected by peeling method. **Postharvest biology and technology**, v. 58(3), p. 247-253, 2010.

KURU, P. *Tamarindus indica* and its health related effects. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 4(9), p. 676-681, 2014.

LECETA, I.; MOLINARO, S.; GUERRERO, P.; KERRY, J. P.; DE LA CABA, K. Quality attributes of map packaged ready-to-eat baby carrots by using chitosan-based coatings. **Postharvest Biology and Technology**, v. 100, p. 142-150, 2015.

MARINOVA, D.; RIBAROVA, F.; ATANASSOVA, M. Total phenolics and total flavonoids in Bulgarian fruits and vegetables. **Journal of the university of chemical technology and metallurgy**, v. 40(3), p. 255-260, 2005.

MARQUEZ, G. R.; DI PIERRO, P.; MARINIELLO, L.; ESPOSITO, M.; GIOSAFATTO, C. V.; PORTA, R. Fresh-cut fruit and vegetable coatings by transglutaminase-crosslinked whey protein/pectin edible films. **LWT-Food Science and Technology**, v. 75, p. 124-130, 2017.

MARTINELLO, F.; KANNEN, V.; FRANCO, J. J.; GASPAROTTO, B.; SAKITA, J. Y.; SUGOHARA, A.; UYEMURA, S. A. Chemopreventive effects of a *Tamarindus indica* fruit extract against colon carcinogenesis depends on the dietary cholesterol levels in hamsters. **Food and Chemical Toxicology**, v. 107, p. 261-269, 2017.

MASTROMATTEO, M.; CONTE, A.; DEL NOBILE, M. A. Packaging strategies to prolong the shelf life of fresh carrots (*Daucus carota* L.). **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 13, p. 215-220, 2012.

NARSAIAH, K.; WILSON, R. A.; GOKUL, K.; MANDGE, H. M.; JHA, S. N.; BHADWAL, S.; VIJ, S. Effect of bacteriocin-incorporated alginate coating on shelf-life of minimally processed papaya (*Carica papaya* L.). **Postharvest Biology and Technology**, v. 100, p. 212-218, 2015.

NCAMA, K.; MAGWAZA, L. S.; MDITSHWA, A.; TESFAY, S. Z. Plant-based edible coatings for managing postharvest quality of fresh horticultural produce: A review. **Food packaging and shelf life**, v. 16, p. 157-167, 2018.

NAWAB, A.; ALAM, F.; HASNAIN, A. Mango kernel starch as a novel edible coating for enhancing shelf-life of tomato (*Solanum lycopersicum*) fruit. **International journal of biological macromolecules**, v. 103, p. 581-586, 2017.

NORAPHAIPHIPAKSA, N.; SOCHU, W.; MANONUKUL, A.; KANCHANOMAI, C. Experimental and numerical investigations to determine the modulus and fracture mechanics of tamarind seed (*Tamarindus indica* L.). **Biosystems Engineering**, v. 151, p. 17-27, 2016.

OLIVAS, G. I.; MATTINSON, D. S.; BARBOSA-CÁNOVAS, G. V. Alginate coatings for preservation of minimally processed 'Gala' apples. **Postharvest biology and Technology**, v. 45(1), p. 89-96, 2007.

PELISSARI, F. M.; ANDRADE-MAHECHA, M. M.; do AMARAL SOBRAL, P. J.; MENEGALLI, F. C. Comparative study on the properties of flour and starch films of plantain bananas (*Musa paradisiaca*). **Food Hydrocolloids**, v. 30(2), p. 681-690, 2013.

PUSHKALA, R.; PARVATHY, K. R.; SRIVIDYA, N. Chitosan powder coating, a novel simple technique for enhancement of shelf life quality of carrot shreds stored in macro perforated LDPE packs. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v.16, p. 11-20, 2012.

RANJITHA, K.; RAO, D. S.; SHIVASHANKARA, K. S.; OBEROI, H. S.; ROY, T. K.; BHARATHAMMA, H. Shelf-life extension and quality retention in fresh-cut carrots coated with pectin. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 42, p. 91-100, 2017.

RAZALI, N.; MAT-JUNIT, S.; ABDUL-MUTHALIB, A. F.; SUBRAMANIAM, S.; ABDUL-AZIZ, A. Effects of various solvents on the extraction of antioxidant phenolics from the leaves, seeds, veins and skins of *Tamarindus indica* L. **Food Chemistry**, v. 131(2), p. 441-448, 2012.

REIS, P. M. C. L.; DARIVA, C.; VIEIRA, G. Â. B.; HENSE, H. Extraction and evaluation of antioxidant potential of the extracts obtained from tamarind seeds (*Tamarindus indica*), sweet variety. **Journal of Food Engineering**, v. 173, p. 116-123, 2016.

SABERI, B.; GOLDING, J. B.; MARQUES, J. R.; PRISTIJONO, P.; CHOCKCHASAWASDEE, S.; SCARLETT, C. J.; STATHOPOULOS, C. E. Application of

biocomposite edible coatings based on pea starch and guar gum on quality, storability and shelf life of 'Valencia' oranges. **Postharvest Biology and Technology**, v. 137, p. 9-20, 2018.

SAMAL, P. K.; DANGI, J. S. Isolation, preliminary characterization and hepatoprotective activity of polysaccharides from *Tamarindus indica* L. **Carbohydrate polymers**, v. 102, p. 1-7, 2014.

SHARMA, R.; KAMBOJ, S.; KHURANA, R.; SINGH, G.; RANA, V. Physicochemical and functional performance of pectin extracted by QbD approach from *Tamarindus indica* L. pulp. **Carbohydrate polymers**, v. 134, p. 364-374, 2015.

SHIN, S. H.; CHANG, Y.; LACROIX, M.; HAN, J. Control of microbial growth and lipid oxidation on beef product using an apple peel-based edible coating treatment. **LWT-Food Science and Technology**, v. 84, p. 183-188, 2017.

TRIL, U.; FERNÁNDEZ-LÓPEZ, J.; ÁLVAREZ, J. Á. P.; VIUDA-MARTOS, M. Chemical, physicochemical, technological, antibacterial and antioxidant properties of rich-fibre powder extract obtained from tamarind (*Tamarindus indica* L.). **Industrial Crops and Products**, v. 55, p. 155-162, 2014.

UCHENNA, U. E.; SHORI, A. B.; BABA, A. S. *Tamarindus indica* seeds improve carbohydrate and lipid metabolism: An in vivo study. **Journal of Ayurveda and integrative medicine**. 2017.

VAISHNAV, J.; ADIANI, V.; VARIYAR, P. S. Radiation processing for enhancing shelf life and quality characteristics of minimally processed ready-to-cook (RTC) cauliflower (*Brassica oleracea*). **Food Packaging and Shelf Life**, v. 5, p. 50-55, 2015.

XU, J.; ZHANG, M.; BHANDARI, B.; KACHELE, R. ZnO nanoparticles combined radio frequency heating: A novel method to control microorganism and improve product quality of prepared carrots. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 44, p. 46-53, 2017.

YOUSUF, B.; QADRI, O. S.; SRIVASTAVA, A. K. Recent developments in shelf-life extension of fresh-cut fruits and vegetables by application of different edible coatings: A review. **LWT-Food Science and Technology**. v. 89, p. 198-209, 2017.

❖ CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há diversas partes na estrutura de espécies vegetais, como folha, polpa, casca, semente, e estigma, que apresentam capacidade antioxidante e antimicrobiana, e poderiam ser utilizadas para substituição de aditivos sintéticos na indústria de alimentos. Uma das formas de aplicação dessas espécies vegetais é na forma de extratos, que favorecem a concentração de substâncias bioativas, que estão entre os principais responsáveis pela atividade antioxidante e antimicrobiana.

As dez amostras analisadas apresentaram no processo de extração rendimentos que variaram de 13,50% para os estigmas de milho, a 56,12%, para a polpa de tamarindo. Essas diferenças dos rendimentos da extração podem ser atribuídas a grande heterogeneidade das amostras.

Neste estudo, destacou-se a capacidade antioxidante do extrato metanólico de folha de jabuticaba, que apresentou o melhor resultado pelo método ABTS, e ficou entre os melhores resultados pelo o método DPPH e FRAP. Fato que pode ser associado ao alto teor de compostos fenólicos encontrado nesse extrato. Os extratos de polpa casca e semente de tamarindo também demonstraram boa capacidade antioxidante em pelo menos dois dos métodos utilizados para análise, sendo também opção para reduzir a oxidação.

Para a capacidade antimicrobiana, foi observado que a diluição dos extratos favoreceu a dispersão e aumentou a ação antimicrobiana. Pois todos os extratos apresentaram capacidade de inibir o crescimento das bactérias Gram-positivas e Gram-negativas ao serem diluídos, fato não observado nos ensaios de halo de inibição. As menores concentrações requeridas para inibir o crescimento das bactérias foram obtidas para o extrato de polpa de tamarindo.

Esses resultados sugerem que o extrato da polpa de tamarindo é uma boa opção para ser utilizado na indústria de alimentos como aditivo natural, pois apresenta capacidade antioxidante, a menor concentração necessária para inibir o crescimento de bactérias, e um bom rendimento. Sendo assim, esse extrato foi utilizado como aditivo em filme e revestimento biodegradáveis a base de amido de mandioca,

A adição do extrato de polpa de tamarindo como aditivo em filme a base de amido de mandioca, não alterou o conteúdo de umidade, a solubilidade em água e a espessura do filme, ao compará-lo ao filme sem adição do extrato. Já as propriedades mecânicas foram afetadas, ocorreu uma redução da resistência à tração no filme com extrato, devido à

formação de uma rede polimérica menos homogênea, e a melhoria da propriedade de alongação do filme. Além disso, a incorporação do extrato da polpa de tamarindo aumentou a capacidade antioxidante do filme em todos os métodos analisados.

O revestimento a base de amido de mandioca adicionado do extrato da polpa de tamarindo foi aplicado em cenouras minimamente processadas, e resultou em um eficaz controle do crescimento de bactérias aeróbias mesófilas, bolores e leveduras e coliformes totais, possibilitando maior qualidade microbiológica das cenouras durante os 14 dias de armazenamento.

Com base nos resultados obtidos neste trabalho, pode-se constatar que há diversas espécies vegetais com potencial para substituição de aditivos sintéticos na indústria de alimentos. Como por exemplo, o extrato de polpa de tamarindo, que apresentou bons resultados ao ser aplicado em filme e revestimento biodegradáveis, na conservação de vegetais minimamente processados.